

Einfluss einer therapeutischen Katheterintervention bei Hunden mit Persistierendem Ductus Arteriosus und Pulmonalstenose auf die Gerinnung

Antonia Steinfeld



Inauguraldissertation zur Erlangung des Grades eines
Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Die rechtliche Verantwortung für den gesamten Inhalt dieses Buches liegt ausschließlich bei den Autoren dieses Werkes.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung der Autoren oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2015

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Authors or the Publisher.

1st Edition 2015

© 2015 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

Aus dem Klinikum Veterinärmedizin,
klinische Pathophysiologie und klinische Laboratoriumsdiagnostik,
Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Andreas Moritz

Einfluss einer therapeutischen Katheterintervention bei Hunden mit Persistierendem Ductus Arteriosus und Pulmonalstenose auf die Gerinnung

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Dr. med. vet.
beim Fachbereich Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

eingereicht von

Antonia Steinfeld

Tierärztin aus Lahnstein

Gießen 2014

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr. h.c. Martin Kramer

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Andreas Moritz

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Kerstin Fey

Tag der Disputation: 03.12.2014

Für Eva und Bernhard

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS	I
1 EINLEITUNG	1
2 LITERATURÜBERSICHT	2
2.1 Physiologie der Hämostase	2
2.1.1 Primäre Hämostase	2
2.1.1.1 Thrombozyten	2
2.1.1.2 Vaskuläre Phase	3
2.1.1.3 Thrombozytäre Phase	3
2.1.1.4 Gegenregulation	6
2.1.2 Sekundäre Hämostase	6
2.1.2.1 Extrinsisches System	7
2.1.2.2 Intrinsisches System	7
2.1.2.3 Gemeinsamer Weg	8
2.1.2.4 Gegenregulation	8
2.1.3 Tertiäre Hämostase / Fibrinolyse	9
2.2 Vaskuläre Katheterisierung und Hämostase	10
2.3 Kardiale Erkrankungen und Hämostase	15
2.4 Pulmonalstenose	17
2.5 Persistierender Ductus Arteriosus (PDA)	18
2.6 Kontrastmittel und Hämostase	19
2.7 Zur kardialen Therapie bzw. bei Hunden mit kardialer Erkrankung eingesetzte Medikamente und Hämostase	21
2.7.1 Beta-Blocker	21
2.7.2 ACE-Hemmer	22
2.7.3 Furosemid	23
2.7.4 Pimobendan	24
2.7.5 Beta-Lactam-Antibiotika	24
2.7.6 Anästhetika inklusive Sedativa und Opiode	26
2.7.7 Heparin	27
2.8 Hyperkoagulabilität und Thrombose beim Hund	30
2.9 Blutentnahmetechnik und Hämostase	32
2.10 Gerinnungsuntersuchungen	33
2.10.1 Primäre Hämostase	33
2.10.1.1 ADVIA 2120	33

2.10.1.2 Vollblutaggregometrie.....	34
2.10.2 Sekundäre Hämostase	38
2.10.2.1 Prothrombin Zeit (PT)	38
2.10.2.2 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (PTT).....	38
2.10.2.3 Fibrinogen.....	38
2.10.3 Natürliche Inhibitoren und Fibrinolyse	39
2.10.3.1 Antithrombin	39
2.10.3.2 Protein C und Protein S.....	39
2.10.3.3 D-Dimere	40
2.10.4 Globaltests der Gerinnung.....	41
2.10.4.1 Thrombelastographie (TEG).....	41
3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN	43
3.1 Material und Methoden	44
3.1.1 Studiendesign	44
3.1.2 Probanden	45
3.1.3 Ablauf der Katheterintervention	45
3.1.4 Probenentnahme	47
3.1.5 Gerinnungsuntersuchungen.....	49
3.1.5.1 Primäre Hämostase	49
3.1.5.1.1 ADVIA 2120	49
3.1.5.2 Sekundäre Hämostase	51
3.1.5.2.1 STA Kompakt®	51
3.1.5.2.2 PT, aPTT, Faktor VIII und Fibrinogen	52
3.1.5.3 Natürliche Inhibitoren und Fibrinolyse	53
3.1.5.3.1 Protein C, Protein S, Antithrombin III und D-Dimere	53
3.1.5.4 Globaltest der Gerinnung	54
3.1.6 Statistik	55
3.2 Ergebnisse	56
3.2.1 Probanden	56
3.2.2 Primäre Hämostase	62
3.2.2.1 Hämatologie und Thrombozytenaktivierungsindizes	62
3.2.2.2 Vollblut-Impedanzaggregometrie.....	72
3.2.3 Sekundäre Hämostase	76
3.2.4 Natürliche Inhibitoren und Fibrinolyse	81
3.2.5 Globaltests der Gerinnung – TEG	85
4 DISKUSSION.....	92

4.1	Primäre Hämostase	93
4.2	Vollblutimpedanzaggregometrie	96
4.3	Sekundäre Hämostase, natürliche Inhibitoren und Fibrinolyse.....	98
4.4	Globaltests der Gerinnung TEG.....	100
4.5	Einflussfaktoren	101
4.5.1	Körpertemperatur.....	101
4.5.2	Hämodilution	102
4.5.3	Heparin	103
4.5.4	Weitere Medikamente	104
4.6	Limitationen.....	105
4.7	Schlussfolgerung	106
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	107
6	SUMMARY	109
7	LITERATURVERZEICHNIS	111
	DANKSAGUNG	131

Im Text verwendete Abkürzungen

ACDO	Amplaz canine duct occluder
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ADP	Adenosindiphosphat
aPTT	Aktivierte partielle Thromboplastinzeit
AST	Aspartat-Amino-Transferase
AT	Antithrombin
ATIII	Antithrombin III
ATP	Adenosintriphosphat
AU	aggregation units
AUC	area under the curve
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
CPK	Kreatinkinase
d.h.	das heißt
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme-linked immuno sorbent assay
et al.	et alii
etc.	et cetera
F	Faktor
FDPs	Fibrinogenspaltprodukte
g	Gramm
G	Gauge
Hb	Hämoglobin
HF	Herzfrequenz
Hkt	Hämatokrit (Packed Cell Volume)

Abkürzungsverzeichnis

HMWK	high molecular weight kininogen
i.v.	Intravenös
IU	Internationale Einheiten (International Units)
J	Jahre
K	Kalium
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
L	Liter
LDH	Laktatdehydrogenase
mg	Milligramm
min	Minuten
mk	männlich-kastriert
ml	Milliliter
mm Hg	Millimeter Quecksilbersäule
mMol	Millimol
MPC	Mean platelet component
MPM	Mean platelet volume
MPM	Mean platelet mass
MTA	Medizinisch-technische Assistentin
Na	Natrium
NaCl	Physiologische Kochsalzlösung
PAF	platelet activating factor
PAI	Plasminogen activator inhibitor
PC	Personal Computer
PDA	Persistierender Ductus arteriosus botalli

Abkürzungsverzeichnis

PCDW	mittlere Verteilungsbreite der Thrombozytendichte
PDGF	platelet-derived growth factor
PF4	Plättchenfaktor 4
PGI ₂	Prostaglandin I ₂
PK	Prekallikrein
PLT	Thrombozytenzahl (platelet count)
PS	Pulmonalstenose
PT	Prothrombinzeit
RBC	Erythrozytenzahl (Red Blood Cells)
RIA	Radio-Immunoassay
RT	Raumtemperatur
s	siehe
S	Seite
sec	Sekunden
SEM	Standardabweichung des Mittelwertes
Tabl.	Tabelle
TAFI	Thrombin-aktivierbarer Fibrinolyse-Inhibitor
TEG	Thrombelastogramm
TF	Tissue factor
TFPI	Tissue factor pathway inhibitor
tPA	gewebsspezifischer Plasminogenaktivator
Trigl.	Triglyceride
U	Einheiten (Units)
vWF	von Willebrand Faktor
w	weiblich

Abkürzungsverzeichnis

WBC	Leukozytenzahl (white blood cell count)
wk	weiblich-kastriert
z.B.	zum Beispiel
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µmol	Mikromol

1 EINLEITUNG

Die Hämostase ist ein lebenswichtiger Mechanismus, der im Fall einer Verletzung des Gefäßsystems Blutverluste verhindert. Diverse Kontrollmechanismen tragen dazu bei, eine unangebrachte Blutgerinnung innerhalb von Gefäßen zu vermeiden (Smith S, 2010). In der Human- (De Lorenzo F et al., 2003; Davis CJ et al., 2000; Marcucci R et al., 2006) und in der Tiermedizin (Palmer KG et al., 1998; Johnson LR et al., 1999; Tarnow I et al., 2007) ist ein Zusammenhang kardialer Grunderkrankungen mit einem prokoagulatorischen Status beschrieben. Weiterhin ist bekannt, dass das Einbringen von Kathetern in das Gefäßsystem mit einem gesteigerten Thromboserisiko vergesellschaftet ist (Schuster W, 1978; LaRue MJ, 1990; Courtney JM & Forbes CD, 1994; Johnson LR et al., 1999; Journeycake JM, 2003; Leuser CD et al., 2012). Da es sich bei einer Thrombembolie um eine potentiell lebensbedrohliche Erkrankung handelt (Dunn ME, 2010), ist die Erforschung von Mechanismen der Entstehung, Risikofaktoren und möglicher präventiver Maßnahmen von großem Interesse. Die Inzidenz vaskulärer bzw. thrombotischer Komplikationen im humanmedizinischen kardialen Kathetereingriff liegt aktuell, je nach Studie, etwa bei unter 1 bis 4% (Hanslik A et al., 2011; Cale L et al., 2012). Bezüglich des thrombotischen Risikos einer Herzkatheterintervention bei Hunden liegen nach Wissen der Autorin keine publizierten Daten vor.

Ziel dieser Studie war die Untersuchung des Einflusses einer therapeutischen Katheterintervention bei Hunden mit persistierendem Ductus arteriosus bzw. Pulmonalstenose auf die Blutgerinnung. Diesbezüglich wurden die primäre Hämostase (Thrombozytenaktivierung mittels ADVIA 2120-Thrombozytenaktivierungsindizes, die Thrombozytenfunktion mittels Vollblut-Impedanz-Aggregometrie), die sekundäre Hämostase (PT, aPTT, Fibrinogen, FVIII) sowie die physiologischen Antikoagulantien (Protein S und Protein C), die Parameter der Fibrinolyse (Antithrombin, D-Dimere) und die Kaolin-aktivierte Thrombelastographie (TEG) anhand rekalkifizierten Vollblutes untersucht.

Die Hypothese war, dass eine Katheterintervention zu einer Aktivierung der Gerinnung und somit einem prokoagulatorischen Zustand führt.

2 LITERATURÜBERSICHT

2.1 Physiologie der Hämostase

2.1.1 Primäre Hämostase

2.1.1.1 Thrombozyten

Die Thrombozyten des Hundes sind schmale runde bis ovale kernlose Zellfragmente des Zytoplasmas von Megakaryozyten mit einer durchschnittlichen Lebensspanne von 4 bis 6 Tagen im peripheren Blut (Heilman E et al., 1993). Hauptenergielieferant der Thrombozyten ist Glukose. Sie besitzen Mitochondrien und sind in der Lage mittels Zitratzyklus Energie in Form von ATP zu produzieren. Die Thrombozyten des Hundes verfügen über ein komplexes Kanalsystem, das mit der Zelloberfläche in Verbindung steht und der Ausschleusung verschiedener Substanzen dient. Der innere Aufbau erfolgt über Mikrotubuli und Mikrofilamente, die wiederum über kontraktile Proteine, wie Aktin zusammengehalten werden und dem ruhenden Thrombozyten seine diskoide Form geben. Im Zytoplasma der Thrombozyten befinden sich unterschiedliche Arten von Granula, die verschiedenste gerinnungsaktive Substanzen enthalten und im Zuge einer Aktivierung freigesetzt werden (Harvey JW, 2012, Mitchell RN 2005). Die δ -Granula oder „dense bodies“ enthalten insbesondere Adenosindiphosphat (ADP), Adenosintriphosphat (ATP), Kalziumionen, Serotonin, Histamin und Epinephrin. In den α -Granula befinden sich unter anderem adhäsive Proteine (von Willebrand Faktor (vWF), Fibrinogen, Fibronectin, Thrombospondin), Gerinnungsfaktoren (Faktor (F)V, FVIII, FXI, FXIII), Protease-Inhibitoren (Plasminogenaktivator-Inhibitor (PAI), Tissue factor pathway inhibitor (TFPI)) Chemokine (Plättchenfaktor 4 (PF4), β -Thromboglobulin), P-Selektin, Glykoproteinrezeptoren und andere chemotaktische Komponenten (McMichaels M, 2005, Boudreaux MK, 2010). Auf ihrer Oberfläche exprimieren die Thrombozyten je nach Aktivierungszustand unterschiedliche Rezeptoren zur Zell-Zell-Interaktion. Der Glykoproteinkomplex GPIb/IX/V dient zur Bindung des vWF während der GPIIb/IIIa-Komplex die Fibrinogen- vermittelte Thrombozytenaggregation unterstützt. Die Funktion der Thrombozyten ist vielfältig: Sie formieren sich bei einem Gefäßschaden

zu einem abdichtenden Thrombus, bilden eine gerinnungsaktive Oberfläche zur Beschleunigung der sekundären Hämostase, hemmen über die Ausschüttung von PF4 lokal die antithrombotische Aktivität indem Antithrombin III (ATIII) verdrängt wird und schützen die labile endotheliale Integrität (Harvey JW, 2012, Boudreaux MK, 2010, Stockham SL et al., 2008).

2.1.1.2 Vaskuläre Phase

Die primäre Hämostase verfügt über eine vaskuläre und eine thrombozytäre Phase. Infolge einer Gefäßverletzung kommt es zunächst zur Vasokonstriktion und somit zur Verlangsamung des Blutstromes, wodurch die Aggregation der Thrombozyten sowie die Initiierung der sekundären Gerinnung erleichtert wird (Harvey JW, 2012).

Aus didaktischen Gründen erfolgt in der Literatur weiterhin die Trennung in primäre und sekundäre Hämostase (Mitchell RN, 2005). *In vivo* sind beide Prozesse jedoch sowohl zeitlich, als auch funktionell eng miteinander vernetzt und nicht voneinander abzugrenzen: „cell based model of coagulation“ (Smith SA, 2009). So wirkt das durch die sekundäre Hämostase gebildete Thrombin als potenter Thrombozytenaktivator; die sekundäre Hämostase wiederum verläuft auf der Oberfläche aktivierter Thrombozyten (Jurk K et al., 2005).

2.1.1.3 Thrombozytäre Phase

Eine tragende Funktion bei der Initiierung, Regulation und Lokalisation der Blutgerinnung kommt den Thrombozyten zu. Der Terminus „primäre Hämostase“ beschreibt die Interaktion zwischen Thrombozyten, von-Willebrand-Faktor (vWF) und dem Gefäßendothel, die zur Entstehung eines Thrombozytenaggregates führt (Brooks MB et al., 2010). Hierbei kommt es als Antwort der Thrombozyten auf den Gefäßschäden bzw. infolge Exposition fremder Oberflächen zu einer schnellen Abfolge von Adhäsion, Gestaltwandel (shape change), Degranulation und Aggregation. Diese Vorgänge sind temporär und qualitativ komplex vernetzt, was eine strukturelle Untergliederung erschwert (Bauer N et al., 2008).

Als Thrombozytenadhäsion bezeichnet man die Anhaftung der Thrombozyten an Komponenten der subendothelialen Matrix, die infolge eines Schadens der Gefäßwand freigelegt werden. Diese Reaktion wird vermittelt durch vWF (Mitchell RN, 2005). Dieser wird von Endothelzellen und Megakaryozyten synthetisiert und zirkuliert im Plasma in Form unterschiedlich großer Multimere. Die Adhäsion funktioniert insbesondere unter hohen Strömungsgeschwindigkeiten („Shear-Stress“), da sich in deren Folge die vWF-Monomere im Plasma nach Bindung an Kollagen oder andere Komponenten der subendothelialen Matrix entfalten, wodurch verschiedene Bindungsdomänen an den vWF-Molekülen für Glykoproteine der Thrombozyten (z.B. GP-Ib-IX-V-Komplex) freigegeben werden, die deren Bindung ermöglichen (Pötzsch B et al., 2002). Bei geringeren Scherkräften binden die Thrombozyten vermehrt direkt an Kollagen. Nach Beendigung des Vasospasmus kommt es mit verbessertem Blutfluss zur Bildung des Abscheidungsthrombus, der zahlreiche Thrombozyten enthält (Neumann HA, 2008).

Durch die Adhäsion der Thrombozyten, deren Bindung an Kollagen und die Einwirkung verschiedener Agonisten (Thrombin, ADP, Thromboxan A₂, Serotonin, Adrenalin, platelet activating factor (PAF)) kommt es zur Aktivierung der Phospholipase C in der Thrombozytenmembran. Über diverse enzymatische Reaktionen führt dies zur Exkretion von Kalziumionen sowie zur Aktivierung der Integrin-Rezeptoren GPIIb-IIIa (Jurk K et al., 2005). Diese sind essentiell für die Thrombozytenaggregation, da sie als Bindungsstelle für Fibrin fungieren. Fibrin bindet und vernetzt wiederum die Thrombozyten untereinander, ist aber zu diesem Zeitpunkt noch löslich; erst durch Einwirken von Faktor XIIIa werden die Polymere verfestigt und unlöslich (Neumann HA, 2008). Zusätzlich wird Phospholipase A₂ aktiviert; über die Hydrolyse verschiedener Phospholipide kommt es zur Ausschüttung von Arachidonsäure, die wiederum durch Einwirkung von Cyclooxygenasen zu Thromboxan A₂ verstoffwechselt wird. Phospholipase A₂ trägt weiterhin bei zur Entstehung von PAF, der als wichtiger proinflammatorischer Mediator wirkt und nicht ausschließlich in Thrombozyten, sondern auch in aktivierten Leukozyten und im Gefäßendothel gebildet wird (McMichael M, 2005).

Morphologisch kommt es an dieser Stelle zu einem Gestaltwandel („Shape-change“) der bis dahin diskoiden Thrombozyten. Er wird möglich durch die Kontraktion des Zytoskelettes bestehend aus Mikrotubuli und einem Netzwerk an Aktinfilamenten und hat die Ausbildung von Pseudopodien zur Folge (Neumann HA, 2008). Auf molekularer Ebene kommt es zu Veränderungen an der Membranoberfläche der Thrombozyten. Negativ geladene Phospholipide wie Phosphatidylserin und Phosphatidylcholin (auch als „Plättchenfaktor 3“ bezeichnet), die bei inaktiven Thrombozyten intrazellulär liegen, werden an die Zelloberfläche verbracht wo sie als gerinnungsreaktive Oberfläche fungieren (Pötzsch B et al., 2002, Harvey JW, 2012).

Parallel zum Gestaltwandel kommt es zur Sekretion der Inhaltsstoffe der α - und δ -Granula über ein den Thrombozyten durchziehendes Membransystem, das so genannte „open canalicular system“. Durch diese lokale Konzentration an Gerinnungsfaktoren werden weitere Thrombozyten aktiviert (Pötzsch B et al., 2002, Rendu F et al., 2001, Born G, 1962). Da FV ein wichtiger Kofaktor der Thrombinbildung ist, fördert er eine weitere Fibrinfreisetzung (Carney DH, 1992).

Durch diesen Aktivierungsvorgang werden in der Membran aktivierter Thrombozyten Rezeptoren für die aktivierten Gerinnungsfaktoren FIXa, FVIIIa, FXa und FVa zugänglich, so dass der Tenase-Prothrombinasekomplex gebildet werden kann (siehe auch Sekundäre Hämostase). Zudem kommt es zur Freisetzung von Thrombospondin, das Fibrinogen, Fibronectin, vWF und Kollagen über das GPIIb-Glykoprotein fester miteinander verbindet. Durch den platelet-derived growth factor (PDGF) wird das Wachstum von Muskelzellen und Fibroblasten sowie die Initiierung von Reparaturvorgängen in der Gefäßwand stimuliert (Page CP, 1981, Ross R et al., 1986).

Bei der Retraktion des Thrombozytenaggregates handelt es sich um einen energieverbrauchenden Festigungsprozess. Eine essentielle Rolle spielt hierbei das Thrombasthenin, dass sich wie das Aktinmyosin unter Kalzium-Einwirkung kontrahieren kann und so den Thrombus zusammenzieht. Hierdurch wird Serum, das sich innerhalb des Thrombozyten-Fibrin-Netzes befindet abgepresst, Lysosomen der Thrombozyten freigesetzt und die Gefäßwand verschlossen (Bithell TC, 1993).

2.1.1.4 Gegenregulation

Das Gefäßendothel verfügt über mehrere Mechanismen, die thrombophob wirken und so eine pathologische intravaskuläre Gerinnung verhindern (Mischke R, 2013):

- fehlende Benetzbarkeit der Gefäßoberfläche
- Bildung und Freisetzung von Prostazyklin (Thrombozytenaggregationshemmer)
- Bildung und Freisetzung bzw. endothelassoziierte Anwesenheit von Inhibitoren der Gerinnung wie Heparanen und Thrombomodulin
- Ausschüttung des Gewebe-assoziierten Plasminogenaktivators (t-PA)

Ein weiterer Thrombozytenantagonist des aktivierten Endothels ist Stickstoffmonoxid (NO), das zudem als potenter Vasodilatator fungiert. Außerdem produzieren die Endothelzellen ein Ektoenzym (Ecto-ADP-ase/CD39/NTPDase) mit ADPase Aktivität, das die ADP-Ausschüttung der Thrombozyten vermindert (Jin RC et al., 2005).

2.1.2 Sekundäre Hämostase

Auch bei der plasmatischen Gerinnung wird aus didaktischen Gründen sowie zur Erleichterung der Interpretation von Testresultaten eine funktionelle Trennung in das sogenannte extrinsische, intrinsische und gemeinsame System vorgenommen. Diese Gliederung dient dem besseren Verständnis, spiegelt aber nicht die physiologischen Gegebenheiten wider. Zur Veranschaulichung einer naturgetreueren Darstellung der Vorgänge der Blutgerinnung sei auf das „cell based model of coagulation“ verwiesen (Smith SA, 2009).

Generell handelt es sich bei der sekundären Hämostase um eine Serie von enzymatischen Reaktionsschritten, die stufenweise inaktive Vorstufen (Proenzyme) der Gerinnungsfaktoren, meist kalziumabhängig, in ihre aktivierte Form überführen. Dies mündet in der Bildung von quervernetztem Fibrin, das den durch Thrombozyten gebildeten Thrombus stabilisiert. Die meisten Gerinnungsfaktoren, die bis auf Faktor IV (Ca^{2+}) Proteine darstellen, werden in der Leber synthetisiert. Faktor II, VII, IX und X sowie Protein C und Protein S sind Vitamin K-abhängig. Um ihre Bindung an Kalziumionen und damit ihre Funktionalität zu gewährleisten, muss eine Vitamin K-

abhängige Carboxylierung erfolgen (Harvey JW, 2012). Die sekundäre Hämostase wird zwar auf der Oberfläche Tissue factor-exprimierender perivaskulärer Zellen initiiert, die nach Gefäßverletzung in direkten Kontakt mit Plasmabestandteilen kommen, sie wird jedoch auf der Zellmembran aktivierter Thrombozyten vollendet (Morrissey JH et al., 2008).

2.1.2.1 Extrinsisches System

Das Glykoprotein Gewebethromboplastin oder Tissue factor (TF oder FIII) hat unter physiologischen Bedingungen keinen Kontakt zum Gefäßsystem. Kommt es aber zum Insult eines Blutgefäßes wird das Transmembranprotein, das u.a. von Endothelzellen, Fibroblasten und glatten Muskelzellen, aber auch von Parenchymzellen aus Gehirn, Herz, Lunge und Nieren exprimiert wird, für das Blut zugänglich (Pötzsch B et al., 2002).

Durch Endotoxine und inflammatorische Zytokine kann Tissue Faktor (TF) von Monozyten und Endothelzellen exprimiert werden. Da Faktor VII als einziger Gerinnungsfaktor zu etwa 1% als aktivierte Form (FVIIa) im Blut zirkuliert, kann dieser nun mit TF einen Komplex (TF-VIIa-Komplex) bilden. Dieser wiederum aktiviert FVII zu FVIIa so dass größere Mengen des TF-VIIa-Komplexes entstehen. Durch diesen Komplex werden FIX und FX zu FIXa und FXa aktiviert (Harvey JW, 2012). Da Faktor IX eigentlich dem intrinsischen Weg zugerechnet wird, wird diese Kurzschluss-Verbindung zwischen beiden Wegen als Jasso-Schleife bezeichnet (Xi M, 1989, Harvey, JW, 2012).

2.1.2.2 Intrinsisches System

1863 beobachtete Lister, dass Blut beim Kontakt mit gläsernen Flächen gerinnt (Neumann HA, 2008). Die intrinsische Gerinnungskaskade wird durch negativ geladene Oberflächen in Kombination mit hochmolekularem Kininogen (high molecular weight kininogen HMWK) und Präkallikrein aktiviert, wodurch eine Aktivierung von FXII zu FXIIa stattfindet. Diese Kontaktaktivierung ist nicht kalziumabhängig und geschieht, wenn Blut außerhalb des Gefäßsystems verbracht wird (Smith SA, 2010). FXIIa und Thrombin wiederum aktivieren FXI, der ebenfalls

an HMWK gebunden ist (Gebbink MF, 2009). Weiterhin ist eine Autoaktivierung von FXIa beschrieben. FXIa und der bereits beschriebene TF-FVIIa-Komplex (extrinsisches System) überführen FIX in FIXa. FIXa und sein Kofaktor FVIIa bilden zusammen mit Ca^{2+} und Phospholipiden den sogenannten Tenase-Komplex, der in der Lage ist FX zu aktivieren (Neumann HA, 2008).

2.1.2.3 Gemeinsamer Weg

Mit der Aktivierung von FX münden das extrinsische und das intrinsische System in den gemeinsamen Weg (Stockham SL et al., 2008).

FXa (aktiviert durch FVIIa des extrinsischen bzw. FIXa des intrinsischen Systems) ist bereits in der Lage geringe Mengen an FV zu FVa zu überführen (Harvey JW, 2012). Der Komplex aus FXa und FVa an der Oberfläche aktivierter Thrombozyten wird als Prothrombinasekomplex bezeichnet und spaltet Prothrombin zu Thrombin. Thrombin wiederum löst sich von den Thrombozyten ab und spaltet aus Fibrinogen Fibrinmonomere ab, die polymerisieren. Schließlich wandelt Thrombin FXIII zu FXIIIa um, der dann eine Kreuzvernetzung und somit eine Stabilisation der Fibrinpolymere und somit des Thrombus hervorruft. Zudem aktiviert Thrombin den sogenannten Thrombin-aktivierbaren-Fibrinolyse-Inhibitor, der bei dem neu entstandenen Fibrin eine gewisse Lyseresistenz bewirkt (Martinelli I et al., 2010).

Des Weiteren aktiviert Thrombin FV und FVIII und wirkt somit über einen Rückkopplungsmechanismus autokatalytisch verstärkend (Mischke R, 2005).

2.1.2.4 Gegenregulation

Antithrombin wird in der Leber synthetisiert und stellt einen der potentesten Thrombininhibitoren dar. Sein Wirkprinzip besteht in einer 1:1 Komplexbildung mit Thrombin oder FXa; es kommt zur Ausbildung einer kovalenten Bindung und damit zur Inaktivierung. Die so gebildeten Komplexe werden durch die Leber und das Monozyten-Makrophagen-System abgebaut (Pötzsch B et al., 2002). Antithrombin hemmt zudem, wenn auch mit deutlich geringerer Affinität, die Faktoren IXa, XIa und XIIa (Gentry PA et al., 2008). Als Kofaktor, der seine Wirkung um ein vielfaches

beschleunigt werden von den Endothelzellen Heparansulfat-Proteoglykane bereitgestellt (Shimada K et al., 1991).

Des Weiteren exprimieren die Endothelzellen Thrombomodulin, an das Thrombin bindet und so deaktiviert wird. Zusätzlich kommt es infolge dieser Bindung zur Aktivierung von Protein C und Tissue factor pathway inhibitor (TFPI). Aktiviertes Protein C bindet seinen Kofaktor Protein S und führt auf der Zellmembran aktivierter Thrombozyten zur Hemmung der Koagulation durch Proteolyse von FVa und FVIIIa. Außerdem ist Protein C fähig die Fibrinolyse zu fördern indem es Plasminogen-Aktivator-Inhibitor (PAI-1) hemmt (Esmon CT, 2006). TFPI verbleibt zu großen Teilen mit dem Endothel verbunden; er führt zur Inhibition von FXa sowie des TF-VIIa-Komplexes (DelGiudice LA et al., 2009).

Um einer übersteigerten Thrombusbildung vorzubeugen entlassen die Thrombozyten selbst in ihren Granula neben zahlreichen gerinnungsbeschleunigenden Faktoren ebenso antikoagulatorische Substanzen. Hierzu zählen die Thrombin hemmende Protease Nexin-1 sowie Protease Nexin-2, die zur Deaktivierung von FXIa führt (Walsh PN, 2010).

2.1.3 Tertiäre Hämostase / Fibrinolyse

Ein weiterer Regulationsmechanismus des Körpers zur Prävention einer überschießenden Thrombusformation ist die Fibrinolyse. Sie schafft gleichzeitig die Voraussetzungen für eine zelluläre Reorganisation des Blutgerinnsels (Pötzsch B et al., 2002). Zwar ist die primäre Aufgabe der Fibrinolyse die enzymatische Spaltung von Fibrin und Fibrinogen, weitere Funktionen bestehen aber auch in der Gewebereparation, der Zelladhäsion, der Migration sowie der Proliferation (Smith SA, 2010).

Gleichzeitig mit dem Start der Gerinnung wird auch die Fibrinolyse aktiviert.

FXIIa spaltet High molecular weight kininogen (HMWK) zu Bradykinin, das wiederum den gewebsspezifischen Plasminogenaktivator (tPA) aus dem Gefäßendothel freisetzt. Dadurch wird Plasminogen zu Plasmin (Lys- und Glu-Plasmin) umgewandelt. Dieser Effekt wird durch die Anwesenheit von Fibrin beschleunigt.

Über einen positiven feedback Mechanismus aktiviert Plasmin wiederum FXII (Neumann HA, 2008, Harvey JW, 2010). Plasmin ist ein unspezifisch wirkendes Enzym, es lysiert neben Fibrin auch Fibrinogen, FV, FVIII, Serumkomplement und andere Serumeiweiße. Aufgrund seiner hohen Affinität gegenüber Fibrin kann seine Wirkung lokalisiert werden. Wird Fibrin durch Plasmin gespalten, entstehen Fibrinospaltprodukte mit antithrombotischer Wirkung (Gentry PA et al., 2008). Die verschiedenen Fragmente, die sich anhand ihres Molekulargewichts unterscheiden und im Blut nachweisbar sind wurden in Fragment X, A, B und C benannt. Aus Fragment X wiederum entsteht je ein Fragment Y und D. Fragment D (D-Dimer) kommt durch die Lyse quervernetzten Fibrins zustande; dessen Bestimmung hinsichtlich der Thrombosedagnostik von klinischer Bedeutung ist (Neumann HA, 2008).

Auch die Fibrinolyse wird auf natürlichem Weg gehemmt. PAI-1 aus Endothelzellen inhibiert tPA. Der Komplex aus Thrombin mit Thrombospondin aktiviert den Thrombin-aktivierbaren Fibrinolyse-Inhibitor (TAFI). Er verhindert die Bindung von Plasminogen und tPA an Fibrin und verlangsamt somit die Fibrinolyse. α_2 -Antiplasmin ist in der Lage gelöstes Plasmin, aber nicht das bereits an Fibrin gebundene zu hemmen. α_2 -Makrogobulin kann gewisse Mengen an Plasmin deaktivieren, vor allem aber aktiviertes Protein C (Harvey JW, 2010).

Innerhalb der Kapillaren besteht eine höhere Dichte an Endothelzellen, verglichen mit der systemischen Zirkularisation. Die Thrombomodulin induzierte Aktivierung von Protein C und die Hemmung von Thrombin sowie die Sekretion von tPA ist dort ausgeprägter als in größeren Gefäßen, daher läuft auch die Fibrinolyse innerhalb des Kapillarbettes schneller ab (Sagripanti A et al., 2000).

2.2 Vaskuläre Katheterisierung und Hämostase

Kommt das Gefäßsystem in Kontakt mit Fremdmaterialien, wie z.B. Kathetern, führt dies zu einer Interaktion beider Komponenten miteinander. Courtney und Forbes beschreiben in ihrer Publikation „Thrombosis on foreign surfaces“ von 1994 (Courtney JM et al., 1994), dass kein künstliches Material in der Lage sei, eine für die

Blutgerinnung unattraktive Oberfläche, gleich dem Gefäßendothel zu bilden. Sie erklären eine Thrombusformation an der Fremdoberfläche für einen unvermeidlichen Prozess und somit eine antikoagulatorische Therapie bei der Nutzung von Biomaterialien innerhalb des Gefäßsystems für zwingend notwendig. Beteiligte Komponenten dieser Interaktion seien die Thrombozyten, die intrinsische Gerinnung, die Fibrinolyse, die Erythrozyten und Leukozyten sowie das Komplementsystem. Des Weiteren komme es zu einer Absorption von Protein durch die artifizielle Oberfläche. Insbesondere die Absorption von Fibrinogen als Thrombozytenaktivator führe zu einer Steigerung der Thrombozytenaktivität. Zudem finde eine Kontaktaktivierung des intrinsischen Gerinnungssystems statt (Courtney JM et al., 1994).

Bezüglich der Thrombozyten beschreiben die Autoren deren Adhäsion und Aggregation an der zuvor am Katheter gebildeten Proteinschicht, welche zu einem signifikanten Absinken der Thrombozytenzahl führen könne. Eine Protein-Thrombozyteninteraktion im Sinne einer Ablagerung radioaktiv markierter Thrombozyten ex vivo wurde laut Courtney bei Hund, Schaf und Pavian als Modelltier mittels arteriovenösem Shunt untersucht, wobei die Autoren nicht auf die näheren Umstände der Untersuchungen eingehen und keine Originalstudien zitieren (Courtney JM et al., 1994).

Die von den aktivierten Thrombozyten freigesetzten Substanzen wiederum aktivieren die intrinsische Gerinnung; es kommt zur Entstehung eines Fibrin-Monolayers, was eine weitere Thrombozytenaktivierung bedingt und somit insgesamt zu einem Verbrauch von Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren führt. Laut Courtney und Forbes spielen auch die Leukozyten eine aktive Rolle bezüglich der Interaktion mit Fremdmaterialien. Insbesondere die bevorzugte Anheftung von Granulozyten - mit prokoagulatorischer und proaggregatorischer Aktivität - an die künstliche Oberfläche, sorgt für eine vermehrte Bereitstellung von Thrombozyten und für eine gesteigerte Fibrinformation. Zudem kann eine Leukozytenschädigung durch das Fremdmaterial zur Sezernierung proinflammatorischer Substanzen wie freier Radikale, Interleukine, Tumor Nekrose Faktor, Prostaglandine, Histamine und Plättchen aktivierendem Faktor führen (Courtney JM et al., 1994).

Bei Kontakt mit Fremdoberflächen ist außerdem eine Aktivierung des Komplementsystems mit Freisetzung thrombozytenstimulierender Substanzen (Anaphylatoxin C3a und C5a) beschrieben (Kazatchkine MD et al., 1987).

Die Stärke und Art der Blut-Material-Interaktion machen die Autoren insbesondere von der Art des verwendeten Materials, der Dauer der Exposition und der Blutzusammensetzung (evtl. krankheitsbedingter prokoagulatorischer Status) abhängig; wobei sie bereits nach Stunden von einer Thrombozytenaggregation, Fibrinproduktion und einer Initiation der Fibrinolyse ausgehen (Kazatchkine MD et al., 1987). Auch die Rolle eines Endothelschadens durch den eingebrachten Katheter ist nicht zu unterschätzen. Die Freilegung subendothelialer Proteine fördert die Thrombozytenadhäsion. Zudem fällt an der beschädigten Stelle die physiologische Produktion gerinnungshemmender Substanzen wie Heparansulfat, Thrombomodulin, Protein S und Tissue factor pathway inhibitor weg, so dass es in der Folge zur verminderten Produktion von Protein C und Antithrombin III kommt. Die prokoagulatorische Situation wird durch die Produktion von prothrombotischen Mediatoren wie Tissue factor und antifibrinolytischen Faktoren verschärft (Wu KK et al., 1996).

Speziell für zentrale sowohl arterielle als auch venöse Venenkatheter sind 3 verschiedene typische Thrombus-Bildungsstellen bekannt: an der Außenseite des Katheters (häufigste Form), an der benachbarten Gefäßwand und innerhalb des Katheters (Courtney JM et al., 1994).

Pearson beschreibt für den kardiopulmonalen Bypass beim Menschen, bei dem es ebenfalls zu einem andauernden Kontakt mit Fremdoberflächen kommt, eine hohe Inzidenz postoperativer minderschwerer neurologischer Defizite, die sich auf Mikroemboli in der cerebellaren Zirkularisation zurückführen lassen (Pearson DT, 1981). Auch das Auftreten einer Hämolyse, insbesondere bei der extrakorporalen Zirkularisation, ist in der Humanmedizin als einer der größten Risikofaktoren zur Entwicklung von Thrombembolien bekannt. Infolge Zerstörung der Erythrozyten kommt es zur ADP-Freisetzung was wiederum stimulierend auf die Thrombozyten wirkt, so dass mittlerweile eine standardisierte medikamentelle Gerinnungshemmung erfolgt (Dalen JE et al., 1986). Auch beim Hund ist nach interventionellem Verschluss

des PDA eine mechanisch induzierte Hämolyse als Komplikation – meist bei bestehendem Restshunt – beschrieben (Campbell FE et al., 2006, Van Israel N et al., 2001).

Generell ist der Einsatz zentraler Venenkatheter (ZVK) in der Humanmedizin bei hospitalisierten Patienten einer der Hauptrisikofaktoren zur Entstehung einer venösen Thrombembolie (Woller SC et al., 2011). Malinoski und Mitarbeiter zeigten in ihrer Studie bei 65% der tiefen Venenthrombosen eine ZVK-Assoziation (Malinoski DJ et al., 2011). Als humanmedizinische Katheter-assoziierte Risikofaktoren zeigen Linnemann und Lindhoff-Last (Linnemann B et al., 2012) in ihrem Review folgende Punkte auf:

- Material: Silikone und zweit- sowie dritt- Generations Polyurethane zeigten weniger thrombotische Komplikationen als Polyvinylchlorid, Tetraflouroethylen und Polyethylen (Gallieni M et al., 2008)
- mehrfache Punktionsversuche: die Endothelschädigung an der Punktionsstelle prädisponiert für Katheter-assoziierte Thrombosen (Eisen LA et al. 2006, Lee AY et al., 2006)
- Anzahl der Katheterlumina: so ist ein dreiluminger Katheter, vermutlich aufgrund der Gefäßverlegung thrombogener als ein einlumiger (Eastridge BJ et al., 1995, Verso M et al., 2003)
- Länge des Katheters: je länger die zu überwindende Gefäßdistanz desto größer das Thromboserisiko
- Lokalisation der Katheterspitze: eine fehlerhafte Positionierung ist in 46% der Fälle mit einer Katheterspitzenthrombosierung vergesellschaftet (wobei die Autoren eine Positionierung der Katheterspitze am Übergang von Vena Cava in das rechte Atrium für protektiv halten, da hier die Wahrscheinlichkeit eines direkten Endothelkontaktes am geringsten sei) (Saber W et al., 2011)
- vorangegangene Katheterisierung: die Endothelschädigung an der Punktionsstelle prädisponiert für Katheter-assoziierte Thrombosen (Eisen LA et al. 2006, Lee AY et al., 2006)

- Dauer der Katheterisierung: Luciani und Mitarbeiter fanden eine Thrombosierung innerhalb der ersten beiden Monate nach Einsetzen des Katheters (Luciani A et al., 2001)

Für diese Daten bleibt kritisch anzumerken, dass es sich bei einem Großteil der untersuchten Probanden mit ZVK um onkologische Patienten handelte. Im Gegensatz dazu bestätigten Chopra und Kollegen in ihrem Review von 2012 für peripher einzubringende zentrale Katheter auch bei erwachsenen Probanden ohne Neoplasie eine Inzidenz für eine Katheter-vergesellschaftete Thrombose von 2-5,5%. (Im Vergleich dazu liegt bei Onkologie-Patienten eine Inzidenz von 3,4-7,8% vor.) Sie zeigten zudem für diese Patientengruppe folgende Risikofaktoren auf (Chopra V, et al., 2012):

- vorangegangene Operation (Dauer >1h)
- vorangegangene venöse Thrombembolie
- Fehlpositionierung der Katheterspitze
- Kathetergröße
- Infusionen mit Mannitol oder Vancomycin

Journeycake und Buchanan zeigten 2003 auch für Kinder mit zentralem Venenkatheter eine bis zu 50%ige Inzidenz für das Auftreten einer tiefen venösen Thrombose, wobei sich Patienten mit Neoplasie, akuter systemischer Grunderkrankung sowie gestörter Proteinbiosynthese als prädisponiert darstellten (Journeycake JM et al., 2003).

Auch für Hund und Katze sind thrombotische Komplikationen im Zusammenhang mit intravenösen Kathetern beschrieben. Bei experimenteller chronischer Katheterisierung (über 4 bis 9 Wochen) wurden eine myointimale Hyperplasie nahe der Katheterspitze und papilläre Proliferationen bei 51 Beaglehunden beschrieben (Mesfin GM et al., 1988). Das thrombotische Potential nimmt auch hier, laut einer Studie an 29 Katzen mit Hämodialyse, mit der Thrombogenität des Kathetermaterials, der Größe und anatomischen Lokalisation des Katheters sowie der Dauer seines Verbleibs zu (Langstone CE et al., 1997).

Bereits seit Jahrzehnten ist für die kardiale Katheterisierung von Kindern und Erwachsenen ein gesteigertes Thromboserisiko bekannt, das in der Humanmedizin routinemäßig durch den Einsatz medikamenteller Gerinnungshemmer reduziert wird (Miller HC et al., 1975, Judkins MP et al., 1974). Stanger und Mitarbeiter beschrieben für die retrograde kardiale Katheterisierung eine Femoralarterienthrombose als häufige Komplikation, mit einer Inzidenz von 3-5%, wobei Kinder unter 10kg Körpergewicht einem höheren Risiko unterlagen (Stanger P et al., 1974). Zudem steigerte der Einsatz einer intraarteriellen Ballondilatation bei Kindern und Erwachsenen die Inzidenz einer Femoralarterienthrombose (Wessel DL et al., 1986). Bei Schwein und Mensch konnte sowohl für die kurzfristige Katheterisierung der Pulmonalarterie als auch für das Einbringen eines jugularen zentralen Venenkatheters mittels Thrombelastographie bzw. Thrombozytenaggregometrie eine Hyperkoagulabilität nachgewiesen werden (King et al., 2005, Ryan et al., 2012, Leuser CD et al., 2012).

2.3 Kardiale Erkrankungen und Hämostase

Bereits im 19. Jahrhundert entwickelte der deutsche Arzt und Archäologe Rudolf Virchow die Grundideen zu dem uns heute als „Virchowsche Trias“ bekannten Postulat. Hierbei wird die Pathogenese der Thrombusformation auf 3 verschiedene Faktoren zurückgeführt:

- abnormaler Blutfluss
- Endothelschäden
- Hyperkoagulabilität

Für die Humanmedizin ist der Zusammenhang zwischen Thrombophilie und Herzerkrankungen bewiesen. Sosin und Mitarbeiter legen in ihrer Studie aus 2012 die Erfüllung jedes Punktes der Virchowschen Trias bei Patienten mit kongestivem Herzversagen dar. So konnte (mittels cardiac resonance velocity mapping) in dilatierten linken Ventrikeln eine pathologische Blutverwirbelung sowie eine verminderte Strömungsgeschwindigkeit ermittelt werden. Beides fördert eine Thrombozytenaggregation. Auch endotheliale Dysfunktionen - im Sinne einer

verminderten Stickstoffmonoxidbildung bzw. –ausschüttung - konnte nachgewiesen werden. Die Folge ist eine periphere Vasokonstriktion sowie eine verstärkte Thrombozytenaggregation. Zudem ließen sich erhöhte P-Selectin-Werte und ein erhöhtes MPV, als Marker der Thrombozytenaktivierung sowie eine gesteigerte Aggregationsneigung der Thrombozyten beobachten (Sosin MD et al., 2012). Es ist bekannt, dass bei Menschen mit kongestivem Herzversagen hohe Thrombin-Plasmaaktivitäten und eine gesteigerte Fibrinolyse nachzuweisen sind (Marcucci R et al., 2006). Weiterhin ist eine verminderte Clearance aktivierter Gerinnungsfaktoren beschrieben (Jafir SM, 1997).

In der Veterinärmedizin ist der Zusammenhang kardialer Erkrankungen mit thrombotischen Ereignissen insbesondere bei Katzen (in Form von Aortenthrombosen) mit hypertropher, restriktiver oder dilatativer Kardiomyopathie zu finden. Wobei unklar bleibt, wieso Hunde mit gleichsam vergrößerten Ventrikeln weit weniger häufig von Thrombosen betroffen sind (Kittelson MD, 1998). Potentielle Erklärungen sind eine gesteigerte Aggregationsneigung feline Erythrozyten und Thrombozyten (Welles EG et al., 1994).

Obwohl insgesamt nur wenig über venöse und arterielle Thrombembolien bei Hunden mit kongestivem Herzversagen bekannt ist, konnte eine Hyperkoagulabilität aufgrund kardialer Erkrankung mittlerweile auch für den Hund nachgewiesen werden. So zeigten Olsen und Mitarbeiter eine gesteigerte Thrombozytenaggregation beim Cavalier King Charles Spaniel mit Mitralklappenprolaps (Olsen LH et al., 2001) während Tarnow und Kollegen bei 34 Hunden mit kongestivem Herzversagen erhöhte Plasmaspiegel von Fibrinogen, D-Dimeren und Thrombin-Antithrombin-Komplexen sowie verminderte Aktivitäten von Protein C und Antithrombin beschrieben (Tarnow I et al., 2007). Gegensätzliche Ergebnisse erbrachte die Studie von Noel Clancey und Mitarbeitern, die den platelet function analyzer (PFA-100) benutzen. Hier zeigten sich bei 39 Hunden mit Herzgeräusch und turbulentem Blutfluss im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant verlängerte Verschlusszeiten, was auf eine Unterfunktion der Thrombozyten schließen ließ. Die Werte korrelierten mit dem Schweregrad der Erkrankung. Ursächlich wird von den Autoren ein erhöhter Scher-Stress mit gesteigerter Thrombozytendegranulation und dadurch

hervorgerufener verminderter Funktion diskutiert (Clancey N, et al., 2009). Auch Tanaka und Yamane zeigten 2000 bei 32 Hunden mit Mitralklappeninsuffizienz eine verminderte Thrombozytenaggregation mittels ADP-induzierter Aggregometrie (Tanaka R et al., 2000). 2002 untersuchten Tanaka und Kollegen zudem die Lebensdauer von Thrombozyten bei Hunden mit experimentell induzierter Mitralsuffizienz und stellte eine Verkürzung fest. Als Ursache wurden erneut gesteigerte Scherkräfte postuliert (Tanaka R et al., 2002). Moesgaard und Mitarbeiter testeten 2008 bei 34 Dackeln mit unterschiedlich ausgeprägter Mitralsuffizienz mittels PFA-100 sowie Vollblutaggregometrie die Thrombozytenfunktion und verschiedene Parameter der plasmatischen Gerinnung. Hunde mit stärker ausgeprägter Klappeninsuffizienz hatten signifikant längere Verschlusszeiten als Hunde mit weniger starker Undichtigkeit, so dass auch hier von einer thrombozytären Dysfunktion ausgegangen wurde (Moesgaard SG et al., 2009). Andrea Zoia fand bei Hunden mit Aszites aufgrund eines Rechtsherzrückwärtsversagens Hinweise auf eine Hyperfibrinolyse im Sinne einer verlängerten PT und aPTT, verminderten Plasmafibrinogen-Konzentrationen sowie dem vermehrten Auftreten gegensätzlicher Fibrinogenspaltprodukt- und D-Dimer-Werte. Die veränderten Parameter ließen sich nicht auf eine Leberfunktionsstörung zurückführen (Zoia A et al., 2012). An dieser Stelle sei auch auf die Dissertationsarbeit von P. Orlov (Veröffentlichung folgt) verwiesen, die sich mit der Veränderung der Gerinnungsparameter bei Hunden mit PDA und PS vor und nach Katheterintervention beschäftigt.

2.4 Pulmonalstenose

Bei der Pulmonalstenose handelt es sich um die in Deutschland zweithäufigste angeborene Herzerkrankung beim Hund wobei genetische Prädispositionen für Beagle und Keeshound beschrieben sind; West Highland White Terrier sowie Boxer sind hierzulande überrepräsentiert. Meist wird die Erkrankung durch eine Dysplasie bzw. Fusion der Pulmonalklappe mit Einengung des Ausflusstraktes durch eine sekundäre Hypertrophie hervorgerufen. Selten sind primär supravulväre oder rein subvalvuläre Pulmonalstenosen zu finden. Durch die Stenose kann eine adäquate Blutversorgung der Lunge nicht gewährleistet werden - es kommt zur pulmonalen

Minderperfusion. Infolge des so entstehenden turbulenten Blutstromes kommt es zur Dilatation des Pulmonalarterienstammes während die gesteigerte Druckbelastung des rechten Herzens zur konzentrischen Hypertrophie des rechten Ventrikels führt. Das klinische Bild variiert je nach Ausprägung und Dauer der Erkrankung von klinisch asymptomatischen oder leistungsinsuffizienten Hunden bis zu Tieren mit Rechtsherzversagen.

Eine konservative Therapie besteht bei ausgeprägter Hypertrophie in einer β -Blockade, bei einem Rechtsherzrückwärtsversagen in einer Diurese. Schwere valvuläre Stenosen können mittels interventioneller Ballondilatation eine durchschnittlich 50%ige Druckreduktion erfahren. Der therapeutische Erfolg bleibt Tieren ohne hochgradige Trikuspidalinsuffizienz vorbehalten. Alternativ ist ein operatives Vorgehen bei rein subvalvulären Stenosen möglich. Die Prognose ist in Abhängigkeit der Schwere der Erkrankung und des Therapieerfolges gut bis mäßig (Schneider M, 2008 b)).

2.5 Persistierender Ductus Arteriosus (PDA)

Der PDA stellt die dritthäufigste angeborene Herzerkrankung bei Hunden in Deutschland dar. Eine erbliche Komponente konnte für den Pudel ausgemacht werden; der Deutsche Schäferhund und der Polski Owczarek Nizinny (PON) sind häufiger betroffene Rassen. Es handelt sich um eine fehlerhafte postnatal bestehende Kurzschlussverbindung zwischen Aorta descendens und Pulmonalarterie, die während der Fetalzeit zur Umgehung des Lungenkreislaufes dient. Für die nicht erfolgende Okklusion post partum wird eine mangelnde intramurale Muskulatur des Ductus arteriosus botalli verantwortlich gemacht. Nach der Geburt sorgen die sich verändernden Druckverhältnisse für einen Links-Rechts-Shunt von Aorta zu Pulmonalarterie. Durch die vermehrte Volumenbelastung (das shuntende Blut fließt über die Lunge ins linke Herz) kommt es zur exzentrischen Hypertrophie des linken Ventrikels sowie zur Kongestion der Lunge. In schweren Fällen tritt sekundär durch die Erweiterung der linken Herzkammer eine Mitralinsuffizienz mit Dilatation des linken Vorhofes auf, was die Kongestion der Lunge verstärkt. Die klinischen Symptome können in Abhängigkeit von der Größe

des Ductus und dem Alter des Hundes variieren. So finden sich asymptomatische Tiere neben Hunden mit Belastungsinsuffizienz, Husten und/oder schwerer Dyspnoe.

Eine initiale medikamentelle Therapie sollte bei vorhandenem kongestivem Herzversagen in Form von Diurese und ACE-Hemmung erfolgen. Noch bis vor wenigen Jahren war nur die chirurgische Ligatur des PDAs möglich. Die Erfolgsquoten von etwa 95% verschlechterten sich auf ca. 60% bei Patienten mit Kongestion.

Die Therapie der Wahl besteht derzeit im Katheter-gestützten Verschluss des PDAs mittels (je nach Größe des Gefäßes) Drahtspirale (Coil) oder anderen Systemen (Amplazer duct occluder). Die Erfolgsraten für einen vollständigen Verschluss bei kleinen und mittelgroßen Shunts liegen bei dieser Methode bei nahezu 100%. Die Prognose nach Verschluss des Ductus ist gut. Ohne diesen versterben etwa 60% der Hunde innerhalb eines Jahres nach Diagnosestellung (Schneider M, 2008 a)).

2.6 Kontrastmittel und Hämostase

Iod ist die klassische röntgendichte Komponente der Röntgenkontrastmittel. Es lassen sich verschiedene Typen unterteilen: ionische und nichtionische sowie hoch- und niederosmolare Kontrastmittel. Jedes Molekül eines nichtionischen Kontrastmittels enthält 3 Iodatome, gebunden an einen ungeladenen Benzolring. Im Gegensatz zu den ionischen dissoziieren die nichtionischen Kontrastmitteln nicht in Lösung und benötigen kein stabilisierendes Kation, so dass sie eine wesentlich geringere Osmolalität (ca. 2-3fache Plasmaosmolalität) aufweisen (Brogan WC, Hillis LD, Lange RA, 1991).

Nichtionische Kontrastmittel verursachen deutlich weniger ausgeprägte kardiovaskuläre Veränderungen (Hypotension, Tachy- bzw. Bradykardie, EKG-Veränderungen) und adverse Reaktionen (Erbrechen, Unbehagen, vermehrte Wärme) bei humanen Probanden im Vergleich zu ionischen Kontrastmitteln (Newman TJ, 1984, Katayama H et al., 1990). In ihren bildgebenden Eigenschaften sind beide gleichwertig einsetzbar, wobei nichtionische Kontrastmittel kostenintensiver sind. (Brogan WC et al., 1991)

Bezüglich ihrer Interaktionen mit der Blutgerinnung zeigten diverse in vitro Studien für nichtionische Kontrastmittel eine gesteigerte Thrombusformation (Hwang MH et al., 1989), Thrombinbildung (Kopko PM et al., 1990), Thrombozytenaggregation (Grabowski EF, 1990) und Thrombin-Antithrombin-Komplex-Bildung (Fareed J et al. 1990). Bereits 1989 publizierten Esplugas und Mitarbeiter eine bis zu fünffach gesteigerte Inzidenz thrombotischer Komplikationen bei nichtionischen im Vergleich zu ionischen Kontrastmitteln (Esplugas E et al., 1989). Auch für den Hund konnte in einer experimentellen Arbeit mit artifizieller arterieller Gefäßverletzung ein beschleunigter thrombotischer Gefäßverschluss bei Anwendung nichtionischer Kontrastmittel detektiert werden (Grines CL et al., 1989). Brogan und Kollegen gehen von einer klinischen Relevanz dieser Ergebnisse aus (Brogan WC et al., 1991). Die Dresdner Arbeitsgruppe um Jung untersuchte 2002 die Effekte von nichtionischem und ionischem Kontrastmittel auf die Hämostase von 40 humanen Probanden, die eine Koronarangiographie erhielten. Sie fanden einen Abfall der Thrombozytenreaktivität nach Applikation eines ionischen Kontrastmittels, während sich nach Gabe des nichtionischen Präparates keine Veränderungen ergaben. Für beide Medikamente zeigte sich ein Abfall der Thrombozytenzahl; die D-Dimere veränderten sich nicht. Die Serotoninkonzentration als Marker der Thrombozytenaktivierung stieg ebenso wie die Thrombin-Antithrombin-III-Komplex-Konzentration signifikant nach Verabreichung des nichtionischen Mediums. Keiner der Patienten entwickelte Komplikationen (Jung F et al., 2002).

In ihrer Veröffentlichung aus 1999 vergleichen Idee und Corot monomerische mit dimerischen nichtionischen Kontrastmitteln und zeigen ausschließlich für die Monomere ein starkes Potential der Thrombozytenaktivierung auf (Idee JM, et al., 1999).

Im Gegensatz dazu postulieren Husted und Kanstrup in ihrem Review aus 1998, dass zwar für ionische Kontrastmittel ein antithrombotischer Effekt bestünde, für nichtionische Kontrastmittel aber keine Beeinflussung der Blutgerinnung nachzuweisen wäre. Sie machen für den antithrombotischen Effekt der ionischen Kontrastmedien deren, im Vergleich zu ihren nichtionischen Gegenspielern eine gesteigerte Toxizität verantwortlich, die auch für andere Organsysteme (z.B.

kardiovaskulär) bekannt ist (Husted SE, Kanstrup H, 1998). Gorski und Kollegen konnten bei der Verwendung eines nichtionischen Kontrastmittels mittels Thrombozytenaggregation nach Born bei 10 Patienten mit Koronarangiographie einen inhibitorischen Effekt auf die Thrombozytenaggregation in vitro (ausgeprägter) und ex vivo (weniger stark) nachweisen (Gorski J et al., 1994). In seinem Review aus 2010 fasst Reiner zusammen, dass nichtionische Kontrastmittel eine deutlich bessere Verträglichkeit aufweisen obwohl sich im modernen Katheterlabor beide Kontrastmitteltypen klinisch weder bezüglich der thrombotischen Komplikationen noch der MACE (major adverse cardiac events) unterscheiden (Reiner JS, 2010).

Heute finden aufgrund ihrer besseren Verträglichkeit und des äußerst geringen Auftretens von Nebenwirkungen dominierend die nichtionischen niederosmolaren Iodkontrastmittel Verwendung.

2.7 Zur kardialen Therapie bzw. bei Hunden mit kardialer Erkrankung eingesetzte Medikamente und Hämostase

2.7.1 Beta-Blocker

Beta-Blocker sind Arzneistoffe, die die β -Adrenorezeptoren blockieren. Sie fungieren als Antagonisten der β -Sympathomimetika Adrenalin und Noradrenalin und senken somit Blutdruck und Herzfrequenz.

In der Literatur lässt sich keine einheitliche Aussage bezüglich der Interaktionen dieser Arzneigruppe mit der Hämostase treffen, allerdings scheint die Wirkung insgesamt eher mild antiaggregatorisch zu sein.

Gleerup und Mitarbeiter zeigten beim Menschen eine signifikante Reduktion der Thrombozytenaktivität in vivo anhand eines Absinkens der Konzentrationen an Plättchenfaktor 4 und β -Thromboglobulin während einer Therapie mit Atenolol. Allerdings kam es während körperlicher Belastung zum Anstieg dieser Parameter. Die Fibrinolyse zeigte eine Steigerung im Sinne eines Absinkens von Plasminogen-Aktivator-Inhibitor. Die Autoren führen die Ergebnisse auf eine Reduktion der Scheerkräfte aufgrund der blutdrucksenkenden Wirkung zurück (Gleerup G et al.,

1995). Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Gasser und Betteridge 1991. Sie konnten eine verminderte Aggregationsbereitschaft der Thrombozyten in vitro mit der Methode nach Born für eine Therapie mit Propranolol und Carvedilol bestätigen (Gasser JA et al., 1991).

In einer Studie von Gibbs et al. hingegen, die verschiedene Gerinnungsparameter bei 120 Menschen mit chronischem Herzfehler untersuchte, konnten bis auf einen Anstieg der Thrombozytenzahl unter β -Blocker-Therapie (Carvedilol und Bisoprolol) keine signifikanten Veränderungen bezüglich Fibrinogen, Plasmaviskosität, von Willebrand Faktor- und P-Selectin-Konzentration nachgewiesen werden (Gibbs CR et al., 2001). Auch Smith und Kollegen zeigten keinen detektierbaren ex vivo Effekt von Atenolol auf die Thrombozytenaggregation bzw. die Thromboxan-Produktion mittels Agonisten-induzierter Aggregometrie (Smith A et al., 1997).

2.7.2 ACE-Hemmer

Diese Wirkstoffgruppe hemmt das Angiotensin converting enzyme und führt so zur Abnahme des Gefäßwiderstandes und damit zur Blutdrucksenkung. Angiotensin II-Rezeptoren finden sich auch auf der Oberfläche von Thrombozyten (Moore TJ, et al., 1982, De Leeuw PW et al., 1984). Angiotensin II erhöht dosisabhängig die intrazelluläre Kalziumkonzentration in Thrombozyten (Haller H et al., 1987) und potenziert die Agonisten-induzierte Aggregation (Ding YA et al., 1985). Darüber hinaus vermuten einige Autoren der prothrombotische Effekt von Angiotensin II sei in einer erhöhten Freisetzung von Plasminogenaktivator-Inhibitor I durch Endothelzellen begründet (Brown NJ et al., 2000). Weiterhin ist eine milde Aktivierung der plasmatischen Gerinnung beschrieben, die durch erhöhte Plasmakonzentrationen an Thrombin-Antithrombin-Komplexen sowie Prothrombinfragmente F1 und F2 gekennzeichnet ist (Malinin AI et al., 2003).

Die Angiotensin II-Ausschüttung wiederum kann in vitro durch eine ADP- oder Thrombin-induzierte Thrombozytenaggregation beeinflusst werden. So kann es bei erniedrigten Plasmakonzentrationen von Angiotensin II zu einer Steigerung der Rezeptordichte auf den Thrombozyten oder zu einer gesteigerten Produktion innerhalb der Thrombozyten selbst kommen (Ferri C et al., 1988). Santucci und

Kollegen gehen davon aus, dass Thrombozyten über einen alternativen Signalweg zur Angiotensinproduktion verfügen, der sich nicht durch den ACE-Hemmer Captopril unterbinden lässt (Santucci A et al., 1988).

Für Captopril wurde ein aggregationshemmendes Potential ex vivo bei Patienten mit deutlicher Hypertension nachgewiesen (Someya N et al., 1984). Ebenfalls für hypertensive Patienten unter ACE-Hemmer-Therapie konnten Gomi und Mitarbeiter 2000 verminderte β -Thromboglobulin-Spiegel nachweisen (Gomi T et al., 2000). Moser und Kollegen fanden um 27-67% reduzierte Thromboxan A₂-Konzentrationen infolge Captopril- und Fosinopril-Behandlung (Moser L et al., 1997). Eine veterinärmedizinische Studie konnte bei 50% der therapierten Affen eine reduzierte Thrombozytenaggregation nach hochdosierter Gabe von Fosinopril nachweisen (Hale LP et al., 1998). Bei Menschen mit vorangegangenen Myokardinfarkt stellte Zurbano infolge Captoprilgabe eine reduzierte Dichte an Glykoprotein IIb/IIIa Rezeptoren fest (Zurbano MJ et al., 1999).

Gibbs und Mitarbeiter zeigten in ihrer Untersuchung an Patienten mit chronischem Herzfehler unter ACE-Hemmer-Therapie die Verbesserung eines bestehenden prothrombotischen Status im Sinne einer Reduktion der Ausgangskonzentrationen an Fibrinogen und von Willebrand Faktor (Gibbs CR et al., 2001).

Die Arbeitsgruppe um Malinin postuliert verminderte Bradykinin-Spiegel sowie eine gesteigerte Synthese vasodilatatorischer Prostaglandine und spricht allen ACE-Hemmern eine antithrombotische Komponente zu (Malinin AI et al., 2003). Somit kann insgesamt von einer Verminderung der Thrombozytenaggregation durch den Einsatz von ACE-Hemmern ausgegangen werden.

2.7.3 Furosemid

Das Diuretikum wirkt im aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife, wo es den Natrium-Kalium-Chlorid-Kotransporter hemmt und somit zur vermehrten Flüssigkeitsausscheidung aus dem Extrazellularraum führt.

1986 zeigten Grose und Kollegen eine Hemmung der Prostaglandin- und Thromboxan A₂-Synthese, was zu einer reduzierten Thrombozytenaktivierbarkeit führen könnte (Grose JH et al., 1986).

2.7.4 Pimobendan

Pimobendan ist ein in Deutschland rein veterinärmedizinisch zugelassener Wirkstoff aus der Klasse der Calcium-Sensitizer. Durch die Verstärkung der Empfindlichkeit des Herzmuskels für Kalzium-Ionen kommt es zur positiv inotropen Wirkung. Gleichzeitig hemmt Pimobendan das Enzym Phosphodiesterase 3, was vasodilatatorische Effekte zur Folge hat.

Walter und Kollegen fanden 1988 in Brüssel in ihren Untersuchungen an Menschen mit chronisch- kongestivem Herzversagen bei 4 von 8 Probanden eine (in 3 Fällen) milde Thrombopenie als Nebenwirkung. Allerdings erhielten 3 dieser 4 Patienten gleichzeitig Heparin, für das ein Absinken der Thrombozytenzahl bekannt ist (Walter M et al., 1988).

Eine andere Arbeitsgruppe zeigte eine verminderte spontane und Kollagen-induzierte Thrombozytenaggregation nach Zugabe von Pimobendan zu humanem Vollblut (Saniabadi AR et al., 1989).

Shipley und Mitarbeiter konnten an 10 Hunden in vitro eine signifikant verminderte Kollagen-induzierte Aggregation (AUC und Velocity) mittels Vollblutaggregometrie bei 1000fach über der therapeutischen Konzentration liegender Pimobendan-Dosierung nachweisen. Die Plasma-Thromboxan-Konzentration blieb ebenso wie die Parameter der Thrombelastographie unbeeinflusst (Shipley EA, et al., 2013).

2.7.5 Beta-Lactam-Antibiotika

Die β -Lactam-Antibiotika sind eine Gruppe bakterizid wirkender antimikrobieller Wirkstoffe, der ein Laktam-Ring innerhalb ihrer Strukturformel gemein ist.

Bereits Anfang der 1970er Jahre fand man erstmals eine dosis- und zeitabhängige aggregations- und sekretionshemmende Wirkung von β -Lactam-Antibiotika auf Thrombozyten in vitro (Cazenave J-P et al., 1973). Shattil und Mitarbeiter konnten

diesen Effekt zumindest als Rezeptorhemmung entlarven (Shattil SJ et al., 1980). Während sich die in vitro Wirkung von Penicillin sofort nach Abzug des Medikamentes als reversibel darstellte, benötigte eine Wiederherstellung der physiologischen Thrombozytenfunktion in vivo 3 - 10 Tage (Brown CH et al., 1975, Ballard JO et al., 1984). Auch das anhand der Blutungszeit gemessene Inhibitionspotential von Penicillin entspricht nicht dem in vitro detektierten, wie Fass und Kollegen 1987 zeigten (Fass RJ et al, 1987).

Burroughs und Johnson bestätigten durch ihre Arbeit, dass Penicillin irreversibel an Thrombozyten bindet und in vitro wie auch in vivo Rezeptoren auf der Thrombozytenmembran hemmt. Zusätzlich zeigten die Autoren, dass auch andere Mechanismen, wie die Thromboxan A₂-Synthese und verschiedene post-Rezeptor-Vorgänge wie der intrazytoplasmatische Kalziumeinstrom beeinträchtigt werden. So kam es nach 24 Stunden Inkubation mit Penicillin in vitro bzw. nach antibiotischer Therapie ex vivo zu einer irreversiblen funktionellen Beeinträchtigung der Thrombozyten, welche die Autoren auf eine irreversible Membranveränderung zurückführten. Generell waren die Effekte in vitro deutlicher ausgeprägt als in vivo (Burroughs SF et al., 1990).

1978 konnten Johnson, Rao und White auch beim Hund eine thrombozytäre Dysfunktion infolge kontinuierlicher intravenöser Therapie mit Carbencillin bzw. Ticarcillin nachweisen. Eine Hemmung der ADP-induzierten Aggregation mit der Methode nach Born ließ sich bei allen 15 untersuchten Tieren detektieren, wohingegen die Kollagen-induzierte Aggregation auch im Vergleich zu den humanmedizinischen Studien weit weniger betroffen war. Die Plättchenfaktor 3-Konzentration stellte sich bei 91% der Hunde erniedrigt dar. Eine Verlängerung der Blutungszeiten konnte nur bei deutlicher Hemmung der Kollagen-induzierten Aggregation und eher unter hohen Dosen nachgewiesen werden. Die beschriebenen Effekte traten erst nach 2 stündiger Antibiotikagabe auf. Während die Serotonin-, ATP- und Fibrinogenspiegel sowie die Ultrastruktur der Thrombozyten und die Thrombinzeit unverändert blieben, zeigten sich die Konzentrationen an ¹⁴C-Serotonin und ADP vermindert. Die in der Studie verwendeten Serumkonzentrationen der Antibiotika entsprachen in etwa denen, die 1-2 Stunden

nach Applikation humanmedizinischer Standard Dosen erreicht werden. Die Autoren sprechen den verwendeten Medikamenten abschließend potente antithrombotische Fähigkeiten zu (Johnson GJ et al., 1978).

2.7.6 Anästhetika inklusive Sedativa und Opiode

Parolari und Mitarbeiter testeten in ihrer Studie aus 1999 unter anderem die in vitro Wirkung von Diazepam in therapeutischen Konzentrationen auf die Expression von Thrombozyten-Membran-Rezeptoren mittels Durchflusszytometrie. Sie konnten keinen Effekt bezüglich der Expression von P-Selektin und GPIb und GPIIb/IIIa sowohl in unstimulierten als auch in ADP-stimulierten Thrombozyten finden. Bei 10 Patienten mit Koronar-Chirurgie konnten unstimuliert ebenfalls keine Veränderungen der Thrombozytenaktivierungsparameter nach Applikation der Anästhetika detektiert werden. Die P-Selektin-Expression nach Stimulation mit U46619 war im Gegensatz zur GPIb- und GPIIb/IIIa-Expression signifikant reduziert (Parolari A, et al., 1999).

Veterinärmedizinische Daten zu diesem Thema erhob die Arbeitsgruppe um Reynolds 2012, indem sie verschiedene Blutparameter bei 42 Katzen unter niedrig dosierter Ketamin-Diazepam-Narkose ermittelte. Sie stellte signifikante Veränderungen zu den Ausgangsdaten fest. So verlängerten sich die PT um 7,5% und die Thrombozytenzahl sank um 9% ab. Die Autoren selbst stellen jedoch die klinische Relevanz der statistisch signifikanten Ergebnisse in Frage (Reynolds BS et al., 2012).

1999 untersuchten Dogan und Kollegen die Auswirkungen von Isofluran auf die Thrombozytenfunktion mittels Vollblutaggregation. Sie fanden keine Unterschiede zwischen prä-, intra- und postoperativ gemessener Thrombozytenaggregation bei Menschen, die sich minderschweren chirurgischen Eingriffen unterziehen mussten (Dogan et al., 1999). In einem Review aus 2002 fasst Kozek-Langenecker zusammen, dass sowohl Isofluran als auch Opiode in therapeutischen Konzentrationen einen vernachlässigbaren Effekt auf die Thrombozyten ausüben (Kozek-Langenecker SA, 2002).

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen wurden in einer Studie aus 2005 bei 30 Menschen mittels platelet function analyzer (PFA) klinisch relevante

antithrombotische Effekte 15 Minuten nach Intubation nachgewiesen (Bodzdogan N, et al., 2005). Auch Toprak und Mitarbeiter zeigten postoperativ bei Menschen mit Hepatektomie eine signifikante Verlängerung der INR (international normalized ratio-) unter Isofluran-Anästhesie (Toprak HI et al., 2012). Zu dieser Studie bleibt kritisch anzumerken, dass es sich um Patienten nach einer Leberoperation handelt, so dass per se mit einer Veränderung der Blutgerinnung zu rechnen ist.

2.7.7 Heparin

Heparine gehören zur Gruppe der Antikoagulantien, welche die Fibrinbildung hemmen. Grundbaustein des Heparins ist ein Disaccharid aus dem wiederum durch Vernetzung und Duplikation unterschiedlich große Heparinmoleküle entstehen. Nach dieser Molekülgröße werden unfractionierte und fraktionierte bzw. niedermolekulare Heparine unterschieden. Heparine mit Kettenlängen von 5 bis 17 werden als niedermolekulare Heparine, englisch Low Molecular Weight Heparine (LMWH), solche mit Kettenlängen ab 18 als unfractionierte Heparine (UFH) bezeichnet (Hirsh J et al., 1992). Ihr antikoagulatorischer Wirkmechanismus, den Rosenberg 1973 entschlüsselte, beruht auf einer tausendfachen Verstärkung der Antithrombinwirkung. So bindet Heparin an Lysinreste von Antithrombin III, wodurch eine Konformationsänderung erfolgt und ATIII von einem langsam- zu einem schnellwirkenden Inhibitor der Gerinnung modifiziert wird. Es inaktiviert dann verschiedene Serinproteasen wie Faktor Xa und Thrombin. Allerdings kann Heparin Thrombin, das bereits an Fibrin gebunden ist nicht mehr angreifen (Smith SA, 2010). Niedermolekulares Heparin ist durch seine geringere Molekülgröße nicht zur ausreichenden Bindung an Thrombin befähigt sondern wirkt dominierend durch Hemmung von Faktor Xa. Somit kommt es bei Anwendung von niedermolekularem Heparin im Gegensatz zum unfractionierten i.d.R. nicht zu einer Verlängerung der aPTT (tritt nur bei Überdosierung auf). Die Therapiekontrolle erfolgt hier über die Bestimmung der Plasmaaktivitäten von Anti-Faktor Xa.

Unfractioniertes Heparin wird insbesondere zur Thromboseprophylaxe bei extrakorporaler Zirkularisation und interventionellen kardiologischen Eingriffen eingesetzt, da es die Möglichkeit des effektiven Monitorings mittels activated clotting

time (ACT) oder aPTT und der vollständigen Antagonisierung mittels Protaminchlorid oder –sulfat bietet.

Es besteht auch eine Interaktion zwischen Heparin und Thrombozyten, wobei je nach Studie eine gesteigerte oder verminderte Thrombozytenfunktion beschrieben wird. So ist Heparin einerseits in der Lage die Thrombin-induzierte Thrombozytenaktivierung zu hemmen, andererseits können die Thrombozyten selbst die Wirkung von Heparin über die Bindung an Faktor Xa, der dadurch geschützt ist und über die Sekretion von heparinneutralisierendem Plättchenfaktor 4, β -Thromboglobulin und Thrombospondin blockieren. Im Gegensatz dazu konnten Salzman und Mitarbeiter in ihrer Studie 1977 zeigen, dass Heparin in geringen Dosierungen (10 μ g/ml und weniger) einen verstärkenden Effekt auf die Thrombozytenaggregation in plättchenreichem Plasma hat. Es steigerte sowohl die Agonisten-induzierte Aggregation als auch die Serotonin-Ausschüttung (Salzmann WE et al., 1977). Ähnliche Ergebnisse erzielten Melton, Gabriel und Dehmer. Sie zeigten bei humanen Patienten unter kardialer Katheterisierung 5 Minuten nach Heparininjektion (2000 Units) bei 17 von 32 Probanden (53%) eine vermehrte ADP-induzierte Thrombozytenaggregation im Gegensatz zu 11 (34%) mit reduzierter Antwort und 4 (13%) ohne Veränderung. Ebenso verhielt es sich mit dem Induktor Kollagen: 20 Patienten (63%) wiesen eine gesteigerte, 7 (22%) eine verminderte und 5 (16%) eine gleichbleibende Thrombozytenaggregation auf (Melton LG et al., 2003). Greenbaum und Mitarbeiter zeigten 5 Minuten nach Injektion von 100 IE/kg eines hochmolekularen Heparins bei Menschen unter kardialer Katheterisierung signifikante Ergebnisse für den Abfall der Thrombozytenzahl sowie für die Steigerung der Thrombozytenaggregation mittels Vollblutimpedanzaggregometrie und die vermehrte Ausschüttung von Thromboxan A₂ (Greenbaum RA et al., 1987).

Mischke und Nimmerfall stellten bei Hunden mittels ADP-induzierter Thrombozytenaggregation nach Born 4 Stunden nach einer Heparininjektion von 1000 IE/kg- mit der Plasmakonzentrationen von 1,2 IE/ml erreicht wurden- keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu den Basalwerten fest (Mischke R et al., 2000).

Zudem hat Heparin auch Effekte auf Endothelzellen. Es regt die Synthese des antikoagulatorischen Heparansulfates an und fördert die Sekretion von TFPI und tPA. Clowes und Mitarbeiter zeigten zudem eine Inhibition der Proliferation glatter Gefäßmuskulatur (Clowes AW et al., 1977) und Blajchmann und Kollegen konnten eine erhöhte Gefäßpermeabilität bei Kaninchen feststellen (Blajchman MA et al, 1989).

Außerdem kommen Heparin auch Funktionen außerhalb der Gerinnungskaskade zu. Es wirkt auf den Lipidstoffwechsel, ist in hohen Konzentrationen in Mastzellen zu finden, wo es bei allergischen Reaktionen freigesetzt wird und antagonisiert die Toxizität von Histamin. Sein Abbau findet über Heparinasen in Leber und Niere statt.

Die häufigste beschriebene Nebenwirkung bei Heparintherapie ist eine Blutungskomplikation, die in der Humanmedizin in 1-5% der Fälle zu beobachten ist. Fatale Komplikationen werden mit unter 1% angegeben. Weiterhin kann es zu einer heparininduzierten Thrombopenie durch heparinabhängige Antikörper kommen. Außerdem ist in der Humanmedizin für eine Langzeittherapie ein erhöhtes Osteoporoserisiko infolge Aktivierung von Osteoklasten beschrieben sowie Hautreaktionen auf enthaltene Adjuvanzen. Eine echte Heparinallergie sei jedoch extrem selten. (Pötzsch B et al., 2002, Neumann HA, 2008)

Auch in der Veterinärmedizin findet Heparin sowohl durch subkutane als auch intravenöse Applikation bei Hunden zur Prävention thrombotischer Ereignisse Einsatz, wobei eine Überwachung mittels aPTT, ACT, Anti-Faktor Xa-Bestimmung und TEG beschrieben ist (Pittmann JR et al., 2010).

Bezüglich der Nebenwirkungen der Heparintherapie wurde eine klassische Heparin-inuzierte Thrombopenie in der Veterinärmedizin bisher nicht beschrieben, allerdings kommt es auch bei Hunden und Katzen unter Heparintherapie teilweise zum Abfallen der Thrombozytenzahlen. Auch die Osteoporose als Langzeiteffekt ist veterinärmedizinisch nicht dokumentiert, allerdings stellte Stephanie Ann Smith bei einer Katze unter 18monatiger Heparintherapie pathologische Frakturen und eine verminderte Knochendichte fest (Smith, SA, 2012). Bei der Überwachung der Gabe von unfractioniertem Heparin wird in der Tiermedizin in Anlehnung an die

humanmedizinischen Referenzbereiche ein Zielbereich von 1,5-2,5facher Verlängerung der aPTT empfohlen (McCullough S, 2003). Eine direkt lineare dosisabhängige Korrelation kann durch Bestimmung von Antifaktor Xa erzielt werden. Allerdings reflektiert dieser Wert nicht zwangsläufig die biologische Aktivität, da hier weder die in vivo Aktivität gegen Thrombin noch der Grad der TFPI-Ausschüttung Berücksichtigung finden (Smith, SA, 2012). Generell sollte bei der Applikation von Heparinpräparaten bedacht werden, dass sich durch die indirekte antikoagulatorische Wirkungsweise über ATIII und die Bindung an weitere Proteine zum Teil ausgeprägte interindividuelle Schwankungen ergeben, die insbesondere bei erkrankten Patienten (z.B. erhöhter Proteingehalt, ATIII- Erniedrigung) zu berücksichtigen sind (Smith, SA, 2012). Aus der Humanmedizin ist bekannt, dass es zu einem gesteigerten Thromboserisiko durch den Einsatz subtherapeutischer Heparindosen kommen kann (Hirsh J et al. 1992).

2.8 Hyperkoagulabilität und Thrombose beim Hund

Die Thrombose ist definiert als die Bildung eines Blutkoagels (Thrombus) innerhalb eines Blutgefäßes mit daraus resultierendem eingeschränkten Blutfluss. In der Humanmedizin ist sie eine der Haupttodesursachen bei kritisch Kranken und auch in der Tiermedizin werden thrombotische Ereignisse immer häufiger diagnostiziert (Kittrell D et al., 2003). Eine Hyperkoagulabilität bei Hunden ist im Zusammenhang mit diversen Erkrankungen beschrieben (Bauer N et al., 2008).

Die bedeutendsten sind:

- Neoplasien (LaRue MJ et al., 1999)
- Hyperadrenokortizismus (Burns MG et al., 1981)
- immunmedierte hämolytische Anämie (Klein MK et al., 1989)
- Pankreatitis (Van Winkle TJ et al., 1993)
- disseminierte intravaskuläre Koagulopathie (LaRue MJ et al., 1999)
- Sepsis (Johnson LR et al., 1993)
- kardiale Erkrankungen (LaRue MJ et al., 1998)
- Diabetes mellitus
- Hypothyreose (Hargis AM et al., 1981)

- Proteinverlustenteropathie und –nephropathie (Donahue SM et al., 2011, Cook AK et al., 1996)

Als zusätzliche Risikofaktoren konnten die Therapie mit Kortikosteroiden (Van Winkle TJ et al., 1993, Palmer KG et al., 1998) und Verweilkatheter (LaRue MJ et al., 1990) identifiziert werden.

Verallgemeinert wirken Endothelschäden sowie eine vaskuläre Stase prothrombotisch. Ebenso eine Hyperaggregabilität von Thrombozyten, eine vermehrte Aktivierung bzw. ein verminderter Abbau aktivierter Gerinnungsfaktoren sowie eine Reduktion natürlicher Antikoagulantien oder eine mangelnde Fibrinolyse (Hackner SG, 2004). Kittrell und Berkitt erklären, dass unter physiologischen Konditionen Antithrombin, Protein C und das fibrinolytische System eng ineinandergreifen, um eine intravaskuläre Koagulation zu verhindern. Ist eine dieser Komponenten nicht voll funktionsfähig kippt das sensible Gleichgewicht, die prokoagulatorischen Anteile überwiegen und es kommt zum Einsetzen der Gerinnung (Kittrell D et al., 2012). Green beschreibt zum Beispiel ein gesteigertes Risiko der Entwicklung einer Thrombose bei Patienten mit Antithrombinmangel. So bestünde ein mäßig erhöhtes Risiko bei einer Antithrombin-Aktivität zwischen 50-79% der Norm und ein deutlich gesteigertes Risiko bei einer Antithrombinaktivität unter 50% der Norm (Green RA, 1988). Für Hunde mit Hyperadrenokortizismus sind mehrere Gründe für eine Hyperkoagulabilität bekannt, zum einen eine verminderte Antithrombinaktivität, vermutlich infolge verstärkten Verbrauchs unter anderem aufgrund einer bestehenden Hypertension und/oder infolge einer Proteinurie. Weiterhin wurden erhöhte Konzentrationen zirkulierender Gerinnungsfaktoren nachgewiesen (Feldmann EC et al., 2003). Zudem seien ein erhöhter Hämatokrit und vermehrtes Liegen Faktoren, die erkrankte Tiere zusätzlich prädisponieren, da sie zu einer vaskulären Stase führen (LaRue MJ et al., 1990). Beim Diabetes mellitus ist die Hyperglykämie für die meisten prädisponierenden Veränderungen verantwortlich. Es kommt zur Glykosilierung verschiedener thrombozytärer Rezeptoren, was zu einer Hyperaggregabilität führt (Kwaan HA, 1992), zu vermehrtem oxidativen Stress, der sowohl eine reduzierte Lebensdauer als auch eine vermehrte Adhäsionsbereitschaft von Thrombozyten bedingt und zu verminderten Plasmaspiegeln an

gerinnungshemmendem Heparansulfat (Collier, A et al., 1992). Auch aus der Tiermedizin ist bei Patienten mit Diabetes mellitus bekannt, dass es zu einer erhöhten Viskosität des Blutes und einer reduzierten Verformbarkeit der Erythrozyten aufgrund der Hyperglykämie kommt. Sie bedingt zudem eine Thrombin-Aktivierung, eine Hyperfibrinogenämie sowie erhöhte Konzentrationen an Faktor VII, VIII, X, XI, XII und vWF. Im Gegensatz dazu nehmen die Plasmaspiegel an Protein C und Protein S sowie Antithrombin ab (Christopher MM, 1995). Die immunhämolytische Anämie geht einher mit hohen Konzentrationen an Fibrinogen, Fibrin und D-Dimeren sowie einer erniedrigten Antithrombin-Aktivität und bedingt damit eine Thromboseneigung (Breuhl EL et al., 2009). Des weiteren ist eine vermehrte Aktivierung zirkulierender Thrombozyten sowie eine prothrombotische Zytokin-Ausscheidung von beschädigten Erythrozyten und Gefäßendothel nachgewiesen (Weiss DJ et al., 2006). Cook und Cowgill beschreiben für die Protein-Verlust-Nephropathie des Hundes eine 25%ige Inzidenz für thrombotische Komplikationen (Cook AK et al., 1996). Als auslösende Mechanismen werden eine Hypercholesterolämie und Hypoalbuminämie, eine erhöhte Fibrinogenkonzentration sowie verminderte Konzentrationen an Protein C und Antithrombin benannt, die einen prothrombotischen Status begünstigen (Eberst ME et al., 1994). Die entzündlichen Veränderungen, die zum Beispiel mit einer Pankreatitis einhergehen, führen zu einer vermehrten Expression von intravaskulärem Tissue-Faktor und einer Zytokin-induzierten Down-Regulation der fibrinolytischen und antikoagulatorischen Signalwege (Esmon CT et al., 1999). Gordon zeigte 1984 eine deutlich gesteigerte Aktivität von Tissue-Faktor auf neoplastischen Zellen, was per se zu einer Gerinnungsaktivierung führt (Gordon SG, 1984).

Die einer kardialen Erkrankung zugrundeliegenden Mechanismen einer erhöhten Thromboseneigung in Veterinär- und Humanmedizin wurden bereits diskutiert.

2.9 Blutentnahmetechnik und Hämostase

Als optimale Technik zur Blutentnahme, speziell zur Untersuchung von Gerinnungsparametern, wird die atraumatische Venenpunktion angesehen, da hier von einer minimalen Aktivierung der Koagulation und somit von möglichst

unbeeinflussten Testergebnissen auszugehen ist (Mischke RN et al., 2000). Verschiedene humanmedizinische Studien setzten sich mit der Thematik der Auswirkungen der Testresultate nach Blutentnahme über periphere und zentralvenöse Katheter sowie venöser oder arterieller Punktion auseinander (Heap MJ et al., 1997 und Powers JM, 1999). Maekelbergh und Mitarbeiter zeigten adäquate Übereinstimmung der untersuchten Parameter im Vergleich zwischen direkter Punktion der Vene und indirekter Entnahme über einen intravenösen Verweilkatheter bei Hunden (Maekelbergh VA et al., 2008). Er, Bauer und Moritz zeigten in ihrer Arbeit aus 2011 keinen signifikanten Einfluss der Probenentnahmetechnik (20Gauge Nadel, 18G Venenkatheter, 14Gx 16G polyurethan zentraler Venenkatheter mittels Seldinger Technik bzw. 13G zentraler Venenkatheter mittels „über die Nadel“-Technik) auf Vollblutaggregation, PT, aPTT, Fibrinogen-Konzentration, Faktor VIII-Aktivität sowie die natürlichen Inhibitoren der Gerinnung (AT, PC, PS), D-Dimer-Konzentration und die Kaolin-aktivierte Thrombelastographie (Bauer NB et al., 2011).

2.10 Gerinnungsuntersuchungen

2.10.1 Primäre Hämostase

2.10.1.1 ADVIA 2120

Das Hämatologiesystem ADVIA 2120 (Siemens Healthcare Diagnostics) verfügt über die Technik der Laser-gestützten Durchflusszytometrie und arbeitet mit 2 optischen Messgrößen: Absorption und Streulicht. Die Zellen werden durch einen Laserstrahl geleitet und das von ihnen gestreute Licht durch eine Photoelektrode in elektrische Signale umgewandelt (Dotson, 1998).

Die Erstellung der Thrombozytenfunktionsparameter speziell verläuft in 2 Schritten. So werden die Thrombozyten zunächst mittels Dodecylsulfat isovolumetrisch aufgekugelt, um den Faktor „Form“ als Variable zu eliminieren. Anschließend werden die Thrombozyten durch Glutaraldehyd fixiert und mittels einer 2-dimensionalen Messmethode, der sogenannten Zweiwinkelstreulichtmessung im Laserstrahl (optoelektronisches Messprinzip) analysiert. Hierbei kommen ein

Kleinwinkelstreulicht ($2-3^\circ$) mit 30facher Verstärkung sowie ein Großwinkelstreulicht ($5-15^\circ$) mit 12facher Verstärkung zum Einsatz. Zellvolumen und Brechungs-Index werden mit Hilfe der Mie-Theorie zur Streuung bestimmt (Moritz A et al., 2010); auf diese Weise kann zusätzlich zum Thrombozytenvolumen die Messung der in den Thrombozyten vorhandenen Granula und somit des Aktivierungsgrades erfolgen (Moritz A, 2000).

Der Thrombozytenfunktionsparameter mean platelet component concentration bzw. mittlerer interner Thrombozytenbestandteil (MPC) beschreibt die durchschnittliche Dichte der Thrombozyten und wird als Aktivierungsmarker interpretiert (Chapman ES et al., 1996). Das mittlere Thrombozytenvolumen (MPV) entstammt dem Thrombozyten-Volumen-Histogramm während die mittlere Thrombozytenmasse (MPM) aus dem Thrombozyten-Trockenmasse-Histogramm berechnet wird ($MPV \times \text{Thrombozytengehalt}/100$). Die mittlere Verteilungsbreite der Thrombozytendichte (PCDW) ist ein Maß der Variabilität der Thrombozytendichte und wird ebenfalls als Marker der Thrombozytenaktivierung genutzt. So fällt der Parameter bei vermehrter Thrombozytenaktivierung ab (Russell K, 2010).

2.10.1.2 Vollblutaggregometrie

Eine der bedeutendsten Methoden zur Evaluierung der Thrombozytenfunktion in vitro stellt die Messung der Thrombozytenaggregation dar (Dyszkiewicz-Korpanty AM, et al., 2005). Die meistgenutzte Methode war lange die Thrombozytenaggregation nach Born, die die Zunahme der Licht-Transmission in Plättchenreichem Plasma mit zunehmender Aggregation misst (Born GVR, 1962). Nachteile dieser Methode gehen mit der Notwendigkeit zur Erstellung des Plättchenreichen Plasmas einher. So ist dies zeitaufwendig, benötigt größere Blutvolumina und zudem sind große Thrombozyten, die sowohl hypo- als auch hyperreaktiv sein können nicht enthalten, was die Probenqualität beeinträchtigen kann (Dyszkiewicz-Korpanty AM et al., 2005). Verschiedene humanmedizinischen Arbeitsgruppen zeigten zudem einen bis zu 39%igen Verlust der Thrombozyten je nach Art des Präparationsverfahrens (Reiss RF et al., 1988) .

Der PFA 100® (Siemens Healthcare Diagnostics) bietet ein automatisiertes Testverfahren, das bereits mehrfach beim Hund Anwendung fand (Mischke R et al., 2003, Tranow I et al., 2003). Nachteilig ist die vorgegebene feste Agonistenkonzentration der Testkartuschen, zumal Ozaki 1998 den Nutzen verschiedener (niedriger und hoher) Konzentrationen postulierte. So könne man, bei einer vermehrter Aggregation und niedriger Induktor-Konzentration, von einer gesteigerten Thrombozytenfunktion ausgehen (Ozaki Y, 1998).

Eine weitere bedeutende automatisierte Methode ist die Impedanz-Aggregometrie im Vollblut, die den Anstieg des elektrischen Widerstandes während zunehmender Thrombozytenaggregation misst, erstmals beschrieben von Cardinal und Flower 1980 (Cardinal DC et al., 1980). Die Untersuchung findet im Vollblut statt, was eine weniger aufwendige Probenverarbeitung bedeutet; zudem können lipämische Proben besser verwertet werden (Toth O, et al., 2006) und es findet eine Messung im physiologischen Milieu statt, was der Thrombozytenfunktion in vivo wesentlich näher kommt, zumal man mittlerweile um das Zusammenspiel der verschiedenen Blutzellen im Gerinnungsprozess weiß (Dyszkiewicz-Korpanty AM etl al., 2005, Kalbantner K et al., 2009). Ein weiterer Vorteil gegenüber der Methode nach Born besteht darin, dass die Thrombozytenaggregation an einer Oberfläche und nicht in einem löslichen Milieu stattfindet; auch dies kommt den natürlichen Gegebenheiten wesentlich näher (Marschner CB et al., 2012).

Als Point-of-care Gerät zur Vollblut-Impedanz-Aggregometrie steht derzeit das Multiplate® (Roche Diagnostics) zur Verfügung. Das Gerät wurde bereits erfolgreich für den Hund evaluiert, wobei sich der Thrombin-Antagonist Hirudin als Aggregationshemmer der Wahl ergab, da dieser, anders als Zitrat, nicht zur artifiziellen Erniedrigung der Kalziumkonzentration in der Blutprobe führt (Kalbantner K et al., 2009). Marschner und Kollegen erklärten 2012 in ihrer Studie an 20 gesunden und 3 erkrankten Hunden Heparin zum Antikoagulanzen der Wahl, da sie bei Hirudin im Gegensatz zu Heparin eine Spontanaggregation detektieren konnten (Marschner CB et al., 2012).

Das Multiplate® verfügt über 5 verschiedene Testkanäle, die ein paralleles Messen möglich machen. In jeden dieser Testkanäle kann eine Einweg-Küvette (siehe

Abbildung 1) mit Hirudin versetztem Vollblut eingesetzt werden; die Aggregometrie erfolgt automatisiert. Jede Testküvette beinhaltet einen teflonbeschichteten Rührmagneten sowie je 2 unabhängige Elektrodenpaare aus leitfähigem, silberummanteltem Kupfer, die der internen Selbstkontrolle dienen. So finden mit jedem Test automatisch 2 Parallelmessungen statt, wobei die Resultate als Mittelwert beider Messungen angegeben werden. Weichen deren Ergebnisse deutlich voneinander ab erfolgt eine automatische Warnung. Während der Messung kommt es, nach Induktion der Aggregation durch einen gewählten Induktor, zur Anheftung der Thrombozyten an der Oberfläche der Elektroden wodurch sich der elektrische Widerstand zwischen diesen erhöht (siehe Abbildung 2). Diese Veränderung wird registriert, automatisch über eine zuvor festgelegte Zeit aufgezeichnet und graphisch dargestellt.

Die Änderung des Widerstandes zeichnet das Multiplate® zum einfachen Verständnis als sogenannte „Aggregations Units“ (AU) auf. Die „Velocity“ (Zeit in AU/min) gibt den maximalen Anstieg der Aggregationskurve wieder während die „Area under the curve“ ($AUC = AU \times \text{min}$) automatisch vom Gerät errechnet wird und eine Funktion der AU und AU/min darstellt. Sie gibt die Aggregationsantwort über das Aufzeichnungsintervall an (siehe Abbildung 3) (Kalbantner K et al., 2009, Toth O, et al., 2006).

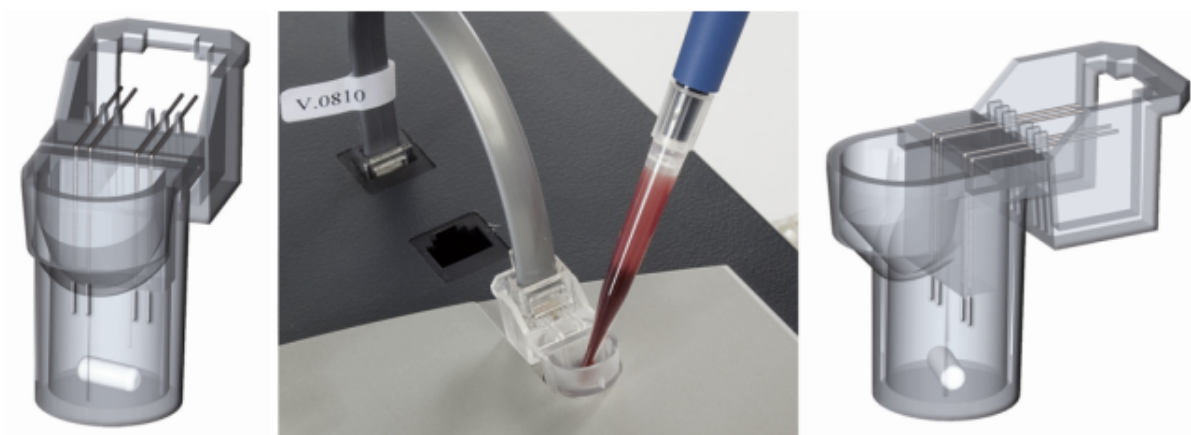


Abbildung 1: Messzellen des Multiplate® und deren Befüllung, ©Multiplate net Verum Diagnostica GmbH

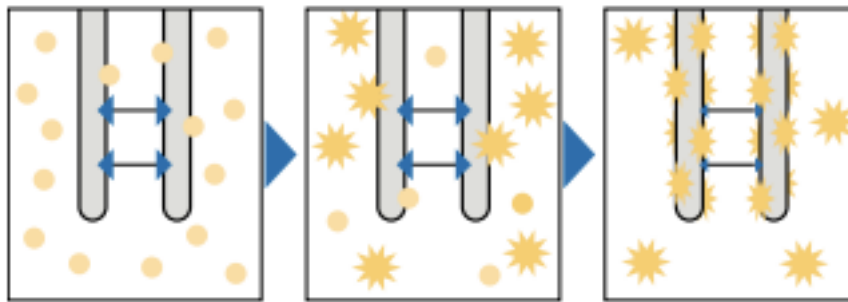


Abbildung 2: Thrombozytenaggregation verändert den Widerstand zwischen den Elektroden Multiplate®, ©Roche Diagnostics International 2012

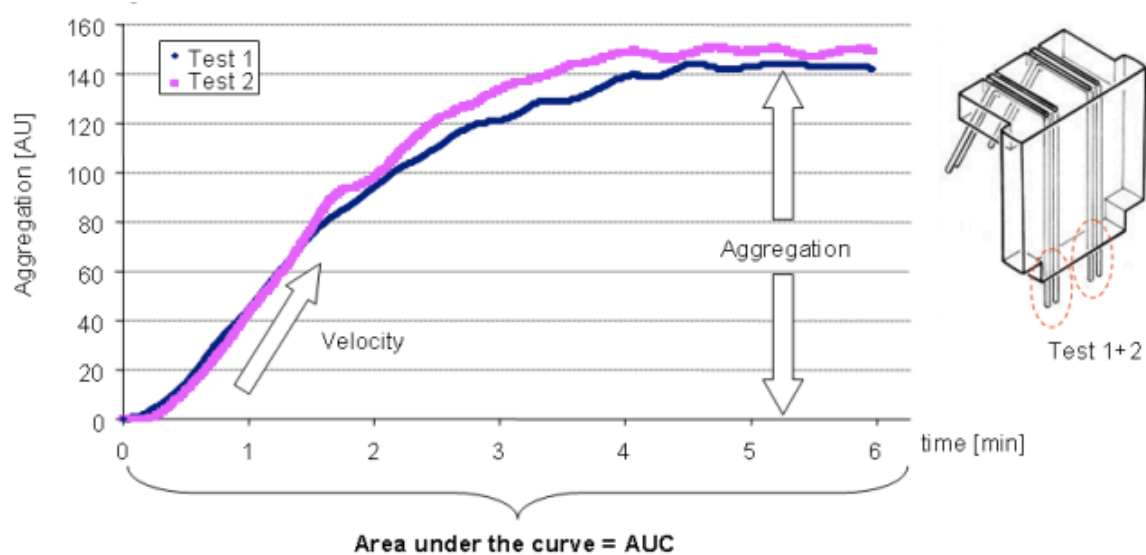


Abbildung 3: Graphische Darstellung der Aggregation Multiplate®, ©Roche Diagnostics International 2012

2.10.2 Sekundäre Hämostase

2.10.2.1 Prothrombin Zeit (PT)

Die Prothrombinzeit überprüft den Tissue-Faktor (TF)- und den gemeinsamen Gerinnungsweg und wird nach folgendem Messprinzip ermittelt:

Das zu testende Plasma und ein Kalzium-Thromboplastin-Reagenz, das Phospholipide und TF enthält, werden getrennt von einander auf 37°C vorgewärmt. Anschließend wird ein Teil des Reagenz dem Plasma hinzugegeben, so kommt es zur Gerinnungsinduktion. Es entstehen Fibrin-Monomere, die anschließend polymerisieren so dass sich unlösliches Fibrin bildet, das optisch oder elektromechanisch detektiert werden kann. Die Zeitspanne von der Reagenz-Zugabe bis zur Detektion eines Gerinnsels ist die Prothrombinzeit (Stockham SL et al., 2008).

2.10.2.2 Aktivierte partielle Thromboplastinzeit (PTT)

Die aktivierte partielle Thromboplastinzeit überprüft den Oberflächen-induzierten- und den gemeinsamen Gerinnungsweg und wird nach folgendem Messprinzip ermittelt:

Das zu testende Zitratplasma wird auf 37°C aufgewärmt und mit prokoagulatorischen Phospholipiden (partielles Thromboplastin) sowie Oberflächenaktivatoren wie Kaolin oder Silikaten inkubiert. Durch die Chelation freien Kalziums über das Zitrat in der Probe wird die Gerinnungsaktivierung über den Faktor XIa hinaus gehemmt. Nach einer definierten Zeit wird vorgewärmtes Kalziumchlorid zugegeben um die Wirkung des Zitrates aufzuheben und eine Fibrinpolymerisation zu ermöglichen. Auch hier kann die Messung des Fibringerinnsels optisch oder elektromechanisch erfolgen. Die Zeit ab Zugabe des Kalziumchlorids bis zur Detektion des Gerinnsels wird als aktivierte partielle Thromboplastinzeit bezeichnet (Stockham SL et al., 2008).

2.10.2.3 Fibrinogen

Fibrinogen wird als Fibrinogen-Aktivität gemessen. Es wird über die Thrombinzeit nach Clauss (TT_{Clauss}), eine modifizierte Thrombinzeit, bestimmt. Plasma wird verdünnt und hohe Konzentrationen an Thrombin zugegeben. Mittels einer

Referenzkurve (erstellt über Proben mit bekanntem Fibrinogen) werden die TT_{Clauss} – Werte ermittelt. Die TT_{Clauss} ist antiproportional zu Fibrinogen. Während die TT_{Clauss} in Sekunden angegeben wird, werden die Fibrinogen-Werte von der Referenzkurve in mg/dL oder $\mu\text{mol/L}$ abgelesen (Stockham SL et al., 2008).

2.10.3 Natürliche Inhibitoren und Fibrinolyse

2.10.3.1 Antithrombin

Antithrombin ist ein Parameter der Gerinnungshemmung. Es wird i.d.R. aus dem Plasma mittels chromogener, also funktioneller Methodik bestimmt. Im Gegensatz dazu erlaubt ein Immunoassay den Nachweis von ATIII-Antikörpern jedoch keine Aussage über dessen Funktion (Bateman SW et al., 1999). Das Testplasma wird einem Heparin enthaltenden Reagenz zugegeben; hinzu kommen, je nach Methode entweder Thrombin oder Faktor Xa sowie ein dementsprechendes chromogenes Substrat für Thrombin bzw. Faktor Xa. Mittels Photometrie wird ein Farbumschwung detektiert, der umso deutlicher auftritt je weniger AT III in der Probe vorhanden ist, da so die Aktivität von Thrombin bzw. Faktor Xa nicht oder nur geringgradig unterbunden wird. Die angegebenen Units sind die prozentuale Aktivität der Probe, verglichen mit einem speziesspezifischen Plasmapool, der 100%ige Aktivitäten besitzt (Stockham SL et al., 2008).

2.10.3.2 Protein C und Protein S

Protein C und Protein S sind natürliche Antikoagulantien und geben nähere Informationen über den antikoagulatorischen Status des Patienten. Im Vergleich zu anderen Parametern spielten sie in der Tiermedizin bisher eher eine untergeordnete Rolle. Geringe Plasmakonzentrationen bzw. Aktivitäten dieser beiden antikoagulatorischen Proteine prädisponieren aufgrund der verringerten Inaktivierung von Faktor Va und VIIIa sowie einer verminderten Fibrinolyse für thrombotische Ereignisse (Stockham SL et al., 2008).

Die Messung der Aktivitäten kann zum einen mittels Gerinnsel-basierender Tests unter Kallibration mit kaninem Poolplasma erfolgen (Welles EG et al., 1991) oder mittels cholorimetrischer Untersuchung, die unter Anwendung eines chromogenen Substrates stattfindet (Fry M et al., 2011).

2.10.3.3 D-Dimere

D-Dimere sind eine spezielle Form der Fibrinsspaltprodukte und entstehen durch die Spaltung von durch Faktor XIII kreuzvernetztem Fibrin im Rahmen der Fibrinolyse. Im Gegensatz dazu sind Fibrinogen- und Fibrinsspaltprodukte auch nach der plasmininduzierten Spaltung von Fibrinogen bzw. Fibrinmonomeren detektierbar. Dies macht die D-Dimere zu einem der wichtigsten labordiagnostischen Parameter zur Feststellung einer Fibrinolyse nach erfolgter Gerinnung, zum Beispiel im Rahmen einer Thrombembolie sowohl in der Human- wie auch in der Veterinärmedizin (Bounameaux H et al., 1994, Nelson OL et al., 2003).

Bauer und Kollegen evaluierten 2009 zur Messung der D-Dimere den immunoturbidimetrischen Test Liatest D-Di Test (Roche, Mannheim) für den Hund (Bauer N et al, 2009 b)). Hierbei wird eine Suspension aus Mikrolatex kovalent mit monoklonalen Antikörpern gegen D-Dimer Epitope (X-Oligomer) beschichtet. Es findet eine vollautomatisierte Inkubation von 50µl unverdünnten Zitratplasmas mit 100µl einer Pufferlösung für 4 Minuten bei 37°C statt. Der eigentliche Testablauf beginnt mit Zugabe von 150 µl Latexsuspension. Die Quantifizierung geschieht anhand einer Zunahme der optischen Dichte im Zuge der Lichtstreuung infolge Agglutination. Die veränderte Lichtabsorption bei 540 nm wird kontinuierlich über 140 Sekunden aufgezeichnet und steht in direktem Zusammenhang zum D-Dimer-Gehalt in der Probe. Die Angabe der D-Dimere erfolgt in mg/ml als Fibrin-Equivalent-Units (FEU), also die Konzentration der Fibrinsspaltprodukte, die aus der Lyse von 1mg/L Fibrinogen entstehen (Oger E et al., 1989).

2.10.4 Globaltests der Gerinnung

2.10.4.1 Thrombelastographie (TEG)

Mit der Thrombelastographie steht der Human- wie der Tiermedizin eine automatisierte Methode zur schnellen Evaluierung der globalen hämostatischen Funktion im Vollblut zur Verfügung (Wiinberg B et al., 2005). Die Thrombelastographie ist in der Lage, Informationen über alle Phasen der Blutgerinnung (Initiation, Verstärkung/Amplifikation, Ausbreitung/Propagation und Fibrinolyse) bereitzustellen. Durch die Verwendung von Vollblut ermöglicht sie zudem die Interaktion von Thrombozyten, Leukozyten und Erythrozyten mit der plasmatischen Gerinnung, was den natürlichen Gegebenheiten der Hämostase am nächsten kommt (Mallett SV et al., 1992).

Das TEG misst die physikalisch-viskoelastischen Eigenschaften eines Blutgerinnsels. Das Testprinzip ist folgendes: Ein stationärer Plastikstift („Pin“), der 1mm Abstand zu jeder Oberfläche hat, wird über die Messdauer in eine mit der Vollblutprobe befüllte Testküvette („cup“) verbracht, die bei 37°C kontinuierlich rotiert. Der Pin wiederum ist über ein Drehkabel mit dem Gerät verbunden. Beginnt die Probe zu gerinnen, sorgt dies für Veränderungen in der Rotation, die über den Pin wahrgenommen werden. Per Datenübertragung findet automatisch die Aufzeichnung der gesamten Blutgerinnungsbildung über die Computersoftware als graphische Darstellung (siehe Abbildung 4) in Echtzeit statt (Chen A et al., 2009, Jandrey KE, 2012).

Insgesamt werden 5 Parameter (R, K, Winkel α , MA und G) bestimmt, deren Anwendung in der Tiermedizin publiziert wurden (Wiinberg B et al., 2005).

R: Die Reaktionszeit ist die Zeit in Minuten vom Beginn der Messung bis zur Detektion der ersten Fibrininformation. Sie reflektiert die Konzentrationen an Gerinnungsfaktoren, korreliert aber nicht immer mit PT und aPTT.

K: Angabe der Zeit in Minuten, bis ein vorbestimmtes Level (20mm) der Gerinnselfestigkeit erreicht ist

α : Der Winkel gibt in Grad die Schnelligkeit der Fibrinbildung und -Kreuzvernetzung an; er ist also ein Maß für die Zunahme der Gerinnselfestigkeit

K und Winkel α bieten ähnliche Informationen. Beide sind beeinflusst von Fibrinogen (essentiell zur Gerinnselfbildung), Faktor XIII (Kreuzvernetzung zur Gerinnselfstabilisierung) und zu einem geringeren Grad von den Thrombozyten.

MA: Die Maximalamplitude ist eine direkte Funktion der maximalen dynamischen Eigenschaften der Fibrin- und Thrombozytenbindung über GP IIb/IIIa und repräsentiert die endgültige Gerinnselffestigkeit. MA wird in mm angegeben und bei maximaler Gerinnselffestigkeit (erreicht etwa nach 45-90 Minuten) gemessen. Der MA-Wert bewertet eine Kombination aus Thrombozytenzahl und – Funktion sowie der Fibrinaktivität.

Ein weiterer Wert zur Evaluierung der Gerinnselffestigkeit ist der G-Wert. Er errechnet sich aus MA über folgende Gleichung: $G = 5000 \times MA / (100 - MA)$. Der G-Wert ist ein Maß für die Gesamtgerinnungsaktivität im Sinne einer Normo-, Hypo-, oder Hyperkoagulabilität. Zusätzlich kann der A-Wert als Parameter der Fibrinolyse bestimmt werden. Er beschreibt die Amplitude 30 Minuten nach MA (Chen A, et al., 2012, Wiinberg B et al., 2005, Bauer N et al., 2009 a)).

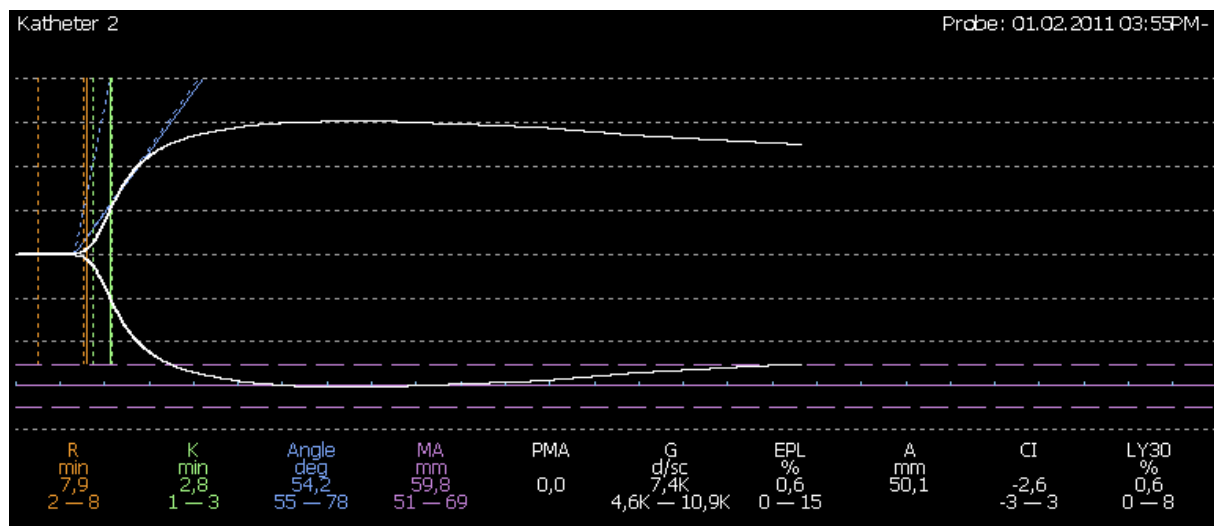


Abbildung 4: Graphische Darstellung Thrombelastogramm (eigene Daten)

3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Verschiedene der im Literaturteil aufgeführten Faktoren kommen während der Katheterintervention bei Hunden mit PDA bzw. Pulmonalstenose zum Tragen und beeinflussen die Hämostase. Die potentiellen thrombotischen Risiken der interventionellen Therapie sind in der Humanmedizin gut erforscht, doch obwohl der Hund in diversen Studien als Modelltier für den Menschen herangezogen wurde, bestehen speziesspezifische Unterschiede. Um adäquate prophylaktische Maßnahmen ergreifen zu können ist es wichtig, Veränderungen der Blutgerinnung während des Kathetereingriffes, die auf einen prothrombotischen Status hinweisen, zu untersuchen. Angenommen wurde, dass es während der Katheterintervention zu einer Aktivierung der Blutgerinnung des Patienten kommen würde. Es war Ziel der Studie diese These zu bestätigen oder zu widerlegen.

3.1 Material und Methoden

3.1.1 Studiendesign

Diese prospektive Studie zur Untersuchung des Einflusses einer therapeutischen Katheterintervention bei Hunden mit Persistierendem Ductus arteriosus botalli bzw. Pulmonalstenose auf die Blutgerinnung wurde durch das Regierungspräsidium Giessen/Hessen geprüft und unter dem Aktenzeichen (V 54 – 19 c 20-15 (1) GI 18/17- Nr.41/2010) genehmigt.

Bei allen Probanden fanden zu festgelegten Zeitpunkten die gleichen Untersuchungen hinsichtlich der Blutgerinnung statt, um eine intra- und interindividuelle Vergleichbarkeit zu gewährleisten.

Es wurde zum einen die Thrombozytenfunktion aus Vollblut nach dem Prinzip der Impedanzaggregometrie mittels Multiplate ®¹ untersucht. Parameter der sekundären und tertiären Hämostase wurden mit Hilfe des automatischen Gerinnungsanalysers STA Compact ®² bestimmt. Hierzu gehören die Bestimmung der Gerinnungszeiten (Prothrombinzeit und partielle Thromboplastinzeit), der Fibrinogenkonzentration, sowie der Konzentration bzw. Aktivität von Faktor VIII, den natürlichen Gerinnungsinhibitoren (Antithrombin III, Protein C, Protein S) und der D-Dimere als Parameter der Fibrinolyse. Weiterhin fand als Globaltest der Gerinnung eine Vollblutanalyse mittels kaolin-aktivierter Thrombelastographie (TEG ®³) statt. Zusätzlich wurden durch den ADVIA 2120 ®⁴ Zellzählungen der Leukozyten, Erythrozyten und Thrombozyten, sowie Bestimmung von Hämatokrit und Thrombozytenindizes (mittleres Thrombozytenvolumen, mittlere

¹ Multiplate ®, Verum, Diagnostica GmbH, München, Deutschland

² STA Compact ®, Roche Diagnostics GmbH, Darmstadt, Deutschland

³ TEG ® 5000Thrombelastograph, Haemonetics Corporation, Braintree, MA, USA

⁴ ADVIA 2120 ®, Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland

Thrombozytenkomponentenkonzentration, mittlere Thrombozytenmasse und mittlere Verteilungsbreite der Thrombozytendichte) durchgeführt.

3.1.2 Probanden

Die Studie umfasste 20 Hunde mit angeborener Herzerkrankung, die zur interventionellen Therapie im Zeitraum zwischen Juni 2010 und November 2011 in der Klinik für Kleintiere der Justus-Liebig-Universität Gießen vorgestellt wurden. Aufgrund der mehrfachen Blutprobenentnahmen wurden Patienten unter 10kg Körpergewicht sowie Tiere mit weiteren schweren angeborenen kardialen Defekten ausgeschlossen. Es sollten 10 Hunde mit Pulmonalstenose (PS) sowie 10 mit persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA) eingeschlossen werden.

3.1.3 Ablauf der Katheterintervention

Die Katheterintervention erfolgte durch die Arbeitsgruppe Kardiologie der Klinik für Kleintiere der JLU Gießen unter Leitung von Prof. Schneider.

Die Narkose wurde intravenös mit einem Kombinationspräparat aus Levomethadonhydrochlorid mit Fenpipramidhydrochlorid⁵ (0,5 mg/kg) und Diazepam⁶ (0,5 mg/kg) eingeleitet. Anschließend wurden die Hunde intubiert und mit einem Gemisch aus Druckluft und Sauerstoff (21%) mit Isofluran⁷ (1,7-2%) kontrolliert beatmet. Es fand eine kontinuierliche Überwachung von endexpiratorischem CO₂, EKG, arteriellem Blutdruck (invasiv in der Arteria dorsalis pedis) und arteriellem Sauerstoffgehalt (Pulsplethysmographie an der Zunge) statt.

Alle Patienten erhielten eine Dauertropfinfusion aus physiologischer Vollelektrolytlösung⁸ in ihrer Grunderkrankung angepasster Geschwindigkeit (5-10 ml/kg/h). Bei Tieren mit einem Alter von unter einem Jahr wurden zu einer 500 ml

⁵ Polamivet®, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland

⁶ Valium, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, Deutschland

⁷ Forene, Abbot GmbH, Wiesbaden, Deutschland

⁸ Sterofundin, Volelektrolytlösung, B. Braun Melsungen, Deutschland

Vollelektrolytlösung 50 ml 40%iger Glukoselösung⁹ zugegeben, um eine Hypoglykämie zu vermeiden.

Alle Tiere mit PDA erhielten einen arteriellen Zugang unter Verwendung eines 4 F Einführbesteckes und Anwendung der perkutanen Seldinger-Technik in die Arteria femoralis. Über diesen erfolgte eine Angiographie zur genauen Darstellung des Shuntgefäßes. Hierzu wurden mittels eines automatischen Hochdruckinjektors 1,0 - 1,2 ml/kg (PDA) eines nichtionischen Röntgenkontrastmittels¹⁰ innerhalb einer Sekunde über einen Pigtailkatheter in die Aorta descendens injiziert.

Weiterhin wurde eine venöse Schleuse (deren Größe den Anforderungen der Implantation bzw. der Ballonkatheter entsprachen) bei allen (PDA + PS) Hunden perkutan in die rechte Vena femoralis eingebracht, über die im weiteren Verlauf die Implantation des ACDO¹¹ (Amplatz canine duct occluder, Doppelschirmchen) bei Patienten mit PDA bzw. die Angiographie mittels Baermannkatheter und die Dilatation mittels Hochdruckballon der Engstelle entsprechend dem Pulmonalklappendurchmesser bei Tieren mit PS erfolgte.

Die Implantation des ACDO bei Tieren mit PDA fand über einen endoffenen Katheter statt, wobei einer der Schirme innerhalb des PDAs (Engstellen nah) und der zweite innerhalb des Pulmonalarterienstammes zum Liegen kamen.

⁹ G40, Glukoselösung, B. Braun Melsungen AG, Deutschland

¹⁰ Xenetix®300, Wirkstoff: Iobitridol 300mgIod/ml, Guerbet GmbH, Sulzbach, Deutschland

¹¹ ACDO® Infiniti Medical, Menlo Park, CA 94025, USA



Abbildung 5: Katheterlabor; Vorbereitung der Intervention

3.1.4 Probenentnahme

Die Blutprobenentnahme erfolgte durch einen, unmittelbar nach Narkoseeinleitung in eine Vena jugularis eingelegten 18 gauge (G) x 45mm Venenkatheter¹² mit aufgesetztem 3-Wege-Hahn¹³.

Vor jeder Blutprobenentnahme wurden die ersten 5ml des aspirierten Blutes verworfen.

Die Blutprobe selbst wurde in mäßiger Geschwindigkeit mittels 20 ml Spritze¹⁴ aspiriert und anschließend sofort auf die Probengefäße verteilt. Die Befüllung der einzelnen Probengefäße erfolgte umgehend nach einem, im Vorfeld in

¹² Vasoflo® INT Venenverweilkänüle, Dispomed Witt oHG, Gelnhausen, Deutschland

¹³ Lipid-Resistenter 3-Wege Hahn Eastern Medikit Limited, Gurgaon, Indien

¹⁴ Ecoject®, 20ml Spritze mit Polypropylenzylinder und Polyethylenkolben, Dispomed Witt oHG, Gelnhausen, Deutschland

Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Biomathematik unter der Leitung von Herrn Akad. Dir. Dr. rer. nat. Klaus Failing, festgelegten randomisierten Schema.

Unmittelbar nach der Probenentnahme wurde der Venenverweilkatheter mit 5ml einer 0,9%igen Kochsalzlösung¹⁵ gespült.

Die Blutprobenentnahmen zur anschließenden Untersuchung der Blutgerinnung sowie die Dokumentation von Herzfrequenz und Körpertemperatur wurden zu folgenden Zeitpunkten durchgeführt:

Zeitpunkt 1) nach Einleitung der Narkose

Zeitpunkt 2) nach Legen der venösen Schleuse

Zeitpunkt 3) nach Intervention

(d.h. nach Einsetzen des ACDOs bei Probanden mit PDA bzw.
nach Dilatation der Pulmonalarterie bei Probanden mit
Pulmonalstenose)

Zeitpunkt 4) 30 Minuten nach erfolgter Intervention

Die Blutprobe wurde nach jeder Entnahme sorgfältig auf folgende Blutprobengefäße verteilt (wobei genau auf die regelgerechte Befüllung geachtet wurde):

- 1 x 1,3 ml EDTA- Blutprobengefäß¹⁶
- 6 x 1,2 ml Citrat- Blutprobengefäße¹⁷ (enthalten 0,2 ml Natrium- Citrat;
Verhältnis Blut : Antikoagulans = 1:9)
Anmerkung: Zu Zeitpunkt 4) wurden statt 6, 7 Citratproben entnommen
- 1 x 4,5 ml Hirudin- Blutprobengefäß¹⁸ (enthält 25 µg/ml Hirudin)

¹⁵ Isotonische Natriumchlorid-Lösung ad us. Vet. , B. Braun Vet Care GmbH, Tuttlingen, Deutschland

¹⁶ Mikroprobengefäß 1,3ml, Kalium-EDTA, Sarstedt AG&Co., Nümbrecht, Deutschland

¹⁷ Mikroprobengefäß 1,3ml, Citrat 3,13%, Sarstedt AG&Co., Nümbrecht, Deutschland

¹⁸ Thrombininhibitor-Blutprobengefäß 4,5ml, Dynabite GmbH, München, Deutschland

Anschließend wurden die Blutprobengefäße mehrfach vorsichtig geschwenkt um eine adäquate Verteilung des enthaltenen Antikoagulans zu gewährleisten.

Die EDTA-Blutprobe wurde zur direkten hämatologischen Untersuchung am ADVIA 2120 inklusive Bestimmung der Thrombozyten- Indizes herangezogen.

Eines der Citrat-Blutprobengefäße (bzw. zu Zeitpunkt 4 zwei Citrat-Blutprobengefäße) wurden zur anschließenden TEG-Analyse für 60 Minuten erschütterungsfrei bei Raumtemperatur aufbewahrt.

Die übrigen Citrat- Blutprobengefäße wurden zur Untersuchung der sekundären bzw. tertiären Hämostase zunächst innerhalb einer Stunde nach Entnahme über 10 Minuten bei 850 g zentrifugiert. Das gewonnene Citratplasma wurde anschließend bei -80°C eingefroren. Die Analyse der plasmatischen Gerinnungsfaktoren erfolgte innerhalb eines Jahres nach Probenentnahme im Zentrallabor des Fachbereiches Veterinärmedizin der JLU Gießen in Zusammenarbeit mit Claudia Bender (Medizinisch Technische Assistentin). Bauer und Mitarbeiter konnten 2009 für die erhobenen Parameter eine Probenstabilität von über 12 Monaten belegen (Bauer N et al., 2009).

Die mit Hirudin versetzte Vollblutprobe wurde vor der Probenbearbeitung mittels Multiplate® 30 Minuten erschütterungsfrei bei Raumtemperatur gelagert.

3.1.5 Gerinnungsuntersuchungen

3.1.5.1 Primäre Hämostase

3.1.5.1.1 ADVIA 2120

Die Analyse der EDTA-versetzten Blutprobe fand unmittelbar nach der Probenentnahme am ADVIA 2120 statt.

Der ADVIA 2120 arbeitet mit der veterinärmedizinischen Softwareversion 5.3.1.-MS.

An diesem Gerät wurden die folgenden Messungen durchgeführt:

- Leukozytenzählung (WBC)

- Hämatokrit (HTC)
- Thrombozytenzählung (PLT)
- Thrombozytenaktivierungsindizes (MPV = Mean platelet volume, MPC = Mean platelet component concentration, MPM = Mean platelet mass und PCDW = platelet component distribution width)

3.1.5.1.2 Vollblut-Impedanzaggregometrie

Zur Beurteilung der Thrombozytenfunktion wurde die Vollblutimpedanzaggregometrie mit Hilfe des Multiplate® Thrombozytenfunktions-Analyzers durchgeführt. Es fand eine automatische Messung mit Einweg-Messzellen¹⁹ statt. In jeder dieser Testzellen befinden sich 2 Sensorpaare, die eine Doppelmessung im Sinne einer direkten Qualitätskontrolle ermöglichen. Die Testzellen wurden zunächst mit 300µl physiologischer (0,9%iger) Kochsalzlösung befüllt. Vor der Messung erfolgte die Erwärmung des Gerätes auf 37°C. Anschließend wurden 300µl der mit Hirudin antikoagulierten Vollblutprobe in die Testzellen verbracht. Nach einer 3 minütigen Inkubationsphase wurden 20µl des Agonisten zugegeben. In dieser Studie wurde zur Induktion der Thrombozytenaggregation der Agonist Kollagen in vier verschiedenen Konzentrationen (3,2 µg/ml; 1,6 µg/ml; 0,8 µg/ml; 0,4 µg/ml), sowie eine Kontrollmessung ohne Agonist verwendet.

Während der Messung fand eine Durchmischung der Probe durch einen speziell beschichteten Rührstab mit 800 Umdrehungen/Minute statt und die Thrombozytenfunktion wurde über 20 Minuten aufgezeichnet.

Das Gerät ermittelt automatisch den Mittelwert der beiden von den 2 Sensorpaaren aufgezeichneten Kurven, der dann zur statistischen Auswertung herangezogen wurde.

Zur internen Qualitätskontrolle wurden an jedem Tag an dem Analysen stattfanden elektronische Kontrollen durchgeführt.

¹⁹ Multiplate Messzellen, Verum, Diagnostica GmbH, München, Deutschland

3.1.5.2 Sekundäre Hämostase

3.1.5.2.1 STA Compact®²⁰

Die Analyse der Parameter der sekundären Hämostase, der natürlichen Inhibitoren und der Fibrinolyse fand an dem vollautomatischen Laborgerät STA Compact® statt.

Der Automat setzt sich zusammen aus:

- einer Küvette, die die Probe und das benötigte Reagenz aufnimmt
- einem Metallball in der Küvette, der zum Schwingen gebracht wird um die Gerinnung zu messen
- drei Nadeln, die die Proben aspirieren und Reagenzien in die Küvetten verteilen
- einem Mechanismus zur Erfassung der Schwingungs-Amplitude des Metallballs innerhalb der Küvette (Chronometrie)
- einer Lichtquelle und einem Sensor um die Lichtresorption der Probe zu bestimmen (Photometrie)
- einer Software, die die Abläufe der Messschritte dirigiert und die Ergebnisse errechnet

Die Proben und die entsprechenden Testreagenzien werden manuell in den Automaten verbracht während die weitere Probenverarbeitung, die Analyse und die Übermittlung der Ergebnisse automatisch erfolgen. Eine zentrale Steuerungseinheit kontrolliert Funktionen wie Datenübertragung, Qualitätskontrollen und Wartung. Das Gerät verfügt über zwei verschiedene Messprinzipien:

Chronometrisches Messprinzip

Dieses Prinzip beruht auf der Messung von Veränderung der Schwingungen des Metallballs durch Sensoren. Die Schwingungsamplitude bleibt dann konstant, wenn das umgebende Material eine gleichbleibende Viskosität erreicht hat; sie steigt wiederum wenn die umgebende Viskosität abnimmt.

Photometrisches Messprinzip

²⁰ STA Compact®, Roche Diagnostics GmbH, Darmstadt, Deutschland

Dieses Prinzip basiert auf der Absorption monochromatischen Lichtes, das durch die Küvette geleitet wird während in dieser eine chromogene (Farbstoff bildende) Reaktion stattfindet. Das weitergeleitete Licht wird gemessen und in Absorption konvertiert. Mittels Lambert-Beerschem Gesetz wiederum wird die Absorption umgerechnet in die Konzentration der zu messenden Substanz (Device Information STA Compact®, 2013).

3.1.5.2.2 PT, aPTT, Faktor VIII und Fibrinogen

Die gefrorenen Citratplasmaproben wurden unmittelbar vor der Probenanalyse, wie von Bruhn et al. 2007 beschrieben (Bruhn HD et al., 2007) in einem auf 37°C temperierten Wasserbad aufgetaut und anschließend nochmals 10 Minuten bei 850 g zentrifugiert.

Mittels automatisiertem Gerinnungstest unter der Verwendung kommerzieller Reagenzien²¹ wurden PT und aPTT bestimmt.

Mittels humanem Faktor VIII- armen Substratplasma²² wurde ein modifizierter 1-Phasen aPTT-Test zur Bestimmung von Faktor VIII durchgeführt. Es erfolgte eine Verdünnung der Probe im Verhältnis von 1:40 mit Verdünnungspuffer; wobei bei einer Messung der Faktor VIII-Aktivität > 150% automatisch eine Wiederholungsmessung in einer Verdünnung von 1:60 durchgeführt wurde. Die Ergebnisse wurden als Prozentangaben im Vergleich zum kaninen Plasmapool angegeben.

Zur Messung der Fibrinogen-Konzentration wurde die Clauss-Methode²³ herangezogen, die einen durch den Hersteller angebotenen humanen Standard-Plasmakalibrator²⁴ verwendet.

Wann immer Messungen durchgeführt wurden, fanden für alle Parameter (ausgenommen Faktor VIII) interne Qualitätskontrollen - bereitgestellt durch den

²¹ STA aPTT kaolin, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland

²² STA Faktor VIII, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland

²³ STA fibrinogen, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland

²⁴ STA Unicalibrator, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland

Hersteller (normal und abnormal) - statt. Zur Qualitätssicherung der Mehrheit der Parameter (PT, aPTT, Fibrinogen) wurde STA PreciClot Plus I und II²⁵ genutzt.

3.1.5.3 Natürliche Inhibitoren und Fibrinolyse

3.1.5.3.1 Protein C, Protein S, Antithrombin III und D-Dimere

Die gefrorenen Citratplasmaproben wurden unmittelbar vor der Probenanalyse, wie von Bruhn et al. 2007 beschrieben (Bruhn HD et al., 2007) in einem auf 37°C temperierten Wasserbad aufgetaut und anschließend nochmals 10 Minuten bei 850g zentrifugiert.

Die D-Dimere wurden durch den STA Liatest D-Di™ mittels immunoturbidimetrischem D-Dimer- Assay²⁶ bestimmt.

Zur Messung von Protein C wurde ein automatisierter Gerinnungstest durchgeführt²⁷. Hierbei wurden 50µl der zu untersuchenden Citratplasmaprobe zunächst mit einer Pufferlösung²⁸ im Verhältnis 1:5 verdünnt. Anschließend wurden folgende Agenzien hinzugegeben: 50 µl Cephalin (Phospholipid PF3 Equivalent), 50 µl Protac (Protein C Aktivator) und 50 µl humanes Protein C-freies Plasma.

Hierdurch kommt es zum einen zur Aktivierung von Protein C und zum anderen durch Kontaktaktivierung zur Initiierung der intrinsischen Gerinnung innerhalb der Probe. Über die Bestimmung der aPTT erfolgte indirekt die Messung der Aktivität von Protein C innerhalb der Probe. Aktiviertes Protein C spaltet Faktor Va und Faktor VIIIa, was wiederum in einem Anstieg der aPTT resultiert. Somit ist die Protein C-Aktivität direkt proportional zum Anstieg der aPTT in Sekunden. Die Ergebnisse

²⁵ STA PreciClot Plus I und II, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland

²⁶ STA Liatest™ D-Dimer, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland

²⁷ STA Protein C Gerinnung, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland

²⁸ STA Verdünnungspuffer, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland

wurden als Prozentangaben bezogen auf den kaninen Standard-Pool-Plasmakalibrator angegeben. Auch die Aktivität von Protein S wurde durch ein automatisiertes Gerinnungstestverfahren²⁹ bestimmt. 50 µl der zu untersuchenden Citratplasmaprobe wurden hierzu mit einem Puffer automatisch im Verhältnis 1:5 verdünnt und anschließend mit 50 µl humanem Protein S- armen Plasma sowie 50µl humanem aktivierten Protein C und 50 µl bovinem Faktor Va inkubiert. Da Protein S ein Kofaktor von Protein C ist, war der antikoagulatorische Effekt von Protein C lediglich durch die Aktivität von Protein S in der Probe erhöht.

Über die Hemmung von Thrombin fand die Bestimmung der Antithrombin III-Aktivität mittels chromogenem Substratkit statt. Die Ergebnisse wurden als Aktivität in Prozent bezugnehmend auf einen humanen Standard-Plasmakalibrator³⁰ angegeben. Wann immer Messungen durchgeführt wurden, fanden für alle Parameter (ausgenommen Protein S, Protein C) interne Qualitätskontrollen- bereitgestellt durch den Hersteller (normal und abnormal)- statt. Zur Qualitätssicherung der ATIII- Messung wurde STA PreciClot Plus I und II³¹ genutzt. Liquicheck™ D-Dimer Kontrolle Level I und II³² wurde zur Qualitätskontrolle der D-Dimere herangezogen.

3.1.5.4 Globaltest der Gerinnung

3.1.5.4.1 TEG

Wie vom Hersteller beschrieben wurde zur Erstellung eines Thrombelastogrammes mittels TEG 5000® Thrombelastograph³³ rekalzifiziertes, durch Citrat antikoaguliertes Vollblut verwendet. Hierzu wurde 1 ml mit Citrat angereichertes Vollblut, nach einer Stunde Inkubationszeit bei Raumtemperatur, in ein spezielles, Kaolin, puffernde

²⁹ STA Protein S Gerinnung, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland

³⁰ STA Antithrombin III, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland

³¹ STA PreciClot Plus I und II, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland

³² Liquicheck D-Dimer Kontrolle Level I und II, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland

³³ TEG 5000®Thrombelastograph, Haemonetics Corp., Braintree, MA, USA

Stabilisatoren und Phospholipide³⁴ enthaltendes Probengefäß verbracht und anschließend 5 x geschwenkt. Nach regelgerechtem (nach Herstellerangaben) Einsetzen von Cup und Pin³⁵ in das Gerät erfolgte die Befüllung des Cups mit 20 µl 0,2 molarem Kalziumchlorid und 340 µl Kaolin-aktiviertem Citrat-Vollblut. Zu Zeitpunkt 4) wurde zusätzlich ein Thrombelastogramm mit Heparinase angereichertem Cup³⁶ durchgeführt, um eine potentielle Heparinwirkung (durch die während des Kathetereingriffes verwendete Heparinspüllösung) detektieren zu können. Zur Qualitätssicherung wurden an jedem Tag, an dem eine Probenanalyse stattfand sowohl eine normale und abnormale interne Qualitätskontrolle³⁷ als auch eine elektrische Qualitätskontrolle (e-Test) durchgeführt.

3.1.6 Statistik

Die gesamte statistische Auswertung erfolgte in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Biomathematik unter Leitung von Herrn Akad. Dir. Dr. rer. nat. Klaus Failing.

Die Überprüfung auf näherungsweise Normalverteilung der Daten wurde mit Hilfe des Q-Q-Plots durchgeführt. Anschließend fand unter Verwendung des BMDP Statistikprogrammes³⁸ eine 2- bzw. 3-faktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholungen bezüglich des Faktors Zeit statt, wobei einige Daten (D-Dimere, Thrombozytenaggregate, Protein C) vorerst logarithmiert wurden. Mittels T-Test für ungepaarte Stichproben wurde die Dauer der Kathetereingriffe auf statistisch

³⁴ TEG® Haemostasis System Kaolin, Haemonetics Corp. (formerly Haemoscope Corporation), Braintree, MA, USA

³⁵ TEG® Haemostasis System Cups and Pins, Haemonetics Corp. (formerly Haemoscope Corporation), Braintree, MA, USA

³⁶ TEG® Haemostasis System Cups and Pins Heparinase, Haemonetics Corp. (formerly Haemoscope Corporation), Braintree, MA, USA

³⁷ TEG® Coagulation Control Level I und II, Haemonetics Corp. (formerly Haemoscope Corporation), Braintree, MA, USA

³⁸ BMDP Statistical Software, Inc.

signifikante Unterschiede überprüft. Das Signifikanzniveau wurde bei $p < 0,05$ angesetzt.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Probanden

Insgesamt gingen 8 männlich-intakte sowie 7 weiblich-intakte und 3 männlich-kastrierte sowie 2 weiblich-kastrierte Tiere in die Studie ein.

Die Hunde mit Pulmonalstenose wiesen folgende Geschlechterverteilung auf: 5 männlich-intakte und 2 weiblich-intakte Hunde sowie 2 männlich-kastrierte und 1 weiblich-kastriertes Tier.

Bei den Hunden mit PDA handelte es sich um 3 männlich-intakte und 5 weiblich-intakte Hunde sowie je 1 männlich- bzw. weiblich-kastriertes Tier.

Der Altersmedian in der PDA-Gruppe lag bei 14 Monaten (Bereich: 4 - 78 Monate), in der Gruppe der Pulmonalstenosen bei 16 Monaten (Bereich: 8 - 46 Monate)

Der Gewichtsmedian der Gesamtpopulation lag bei 21,3kg (Bereich 10,1 - 35,8 kg). Die Tiere mit Pulmonalstenose wiesen einen Gewichtsmedian von 16,5 kg (Bereich 10,1 - 35,8 kg) auf, während der Gewichtsmedian der Patienten mit PDA bei 23,3 kg (Bereich 14,8- 31,5 kg) lag.

Die Rasseverteilung lässt sich aus Tabelle I entnehmen.

Rasse	PDA	PS
Mischling	3	2
Französische Bulldogge	0	4
Deutscher Schäferhund	1	0
Weißer Schäferhund	1	0
Dobermann	0	1
Englische Bulldogge	0	1
Wolfsspitz	1	0
Berner Sennenhund	0	1
Golden Retriever	1	0
Hannoverscher Schweißhund	1	0
Gebirgsschweißhund	0	1
Irish Setter	1	0
Deutsch Langhaar	1	0

Tabelle I: Rasseverteilung der Probanden

Aufgrund ihrer Grunderkrankung wurden die Tiere abhängig von der klinischen Symptomatik und den echokardiographischen Veränderungen mit einem oder mehreren der folgenden Medikamente zwischen Diagnosestellung und Kathetereingriff vortherapiert.

Probanden mit Pulmonalstenose:

- Atenolol (2 x tgl. 0,2 - 2,5 mg/kg) bei 10/10 Hunden
- Furosemid³⁹ (1 x tgl. 0,3 mg/kg) bei 1/10 Hunden

Probanden mit persistierendem Ductus arteriosus botalli:

- Benazepril⁴⁰ (1 x tgl. 0,1 - 0,3 mg/kg) bei 6/10 Hunden
- Ramipril⁴¹ (1 x tgl. 0,1 mg/kg) bei 2/10 Hunden
- Pimobendan⁴² (2 x tgl. 0,16 - 0,28 mg/kg) bei 5/10 Hunden
- Furosemid (1-3 x tgl. 0,6 - 3 mg/kg) bei 6/10 Hunden

Alle Tiere erhielten als antibiotische Prophylaxe am Vortag des Eingriffes zusätzlich Amoxicillin/Clavulansäure⁴³ (2 - 3 x tgl. 20 mg/kg p.o.) sowie während des Eingriffes Ampicillin⁴⁴ (1 x tgl. 50 mg/kg i.v.).

Alle Patienten erhielten im Rahmen der präanästhetischen Untersuchung eine hämatologische und chemische Blutuntersuchung (Harnstoff, Kreatinin, Bilirubin, Alkalische Phosphatase, Alanin-Aminotransferase, Aspartat-Aminotransferase, Glutamatdehydrogenase, Kalium, Chlorid, ionisiertes Kalzium, Magnesium, Phosphat, Gesamtprotein, Albumin, Globulin und Glukose) inklusive mehrerer Entzündungsparameter (Blutsenkungsgeschwindigkeit, Fibrinogen, C-reaktives Protein) sowie eine Röntgenuntersuchung des Thorax in 2 Ebenen (latero-lateraler und dorso-ventraler Strahlengang), ein Elektrokardiogramm, eine Blutdruckmessung und eine Echokardiographie. Die Hunde zeigten hierbei neben unspezifischen bzw.

³⁹ Dimazon®, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland

⁴⁰ Fortekor®, Novartis Pharma GmbH, Nürnberg, Deutschland

⁴¹ Vasotop®, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland

⁴² Vetmedin®, Böhlinger Ingelheim, Pharma GmbH & Co. KG, Ingelheim, Deutschland

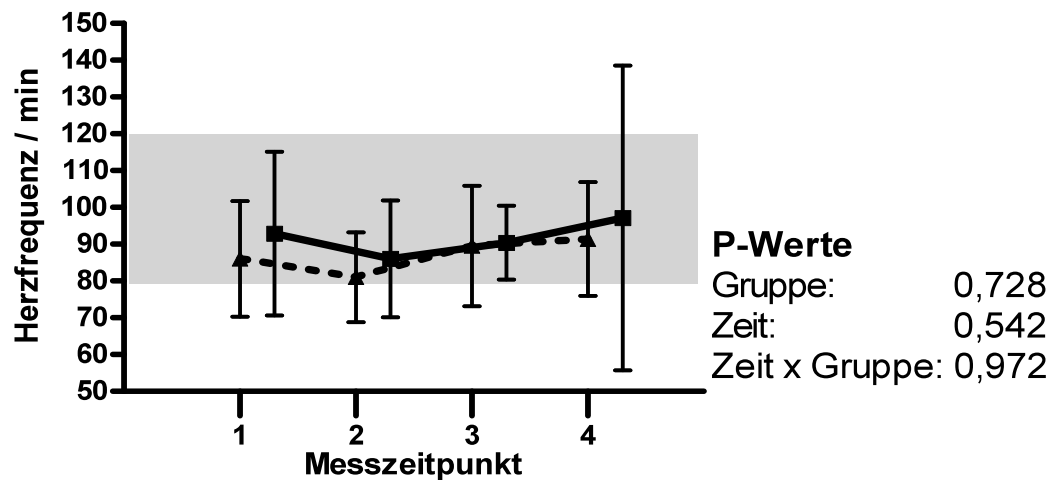
⁴³ Synulox®, Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland

⁴⁴ Ampicillin 2g, AuroMedics Pharma LLC, New Jersey

altersbedingten Veränderungen unterschiedlich ausgeprägte, für ihre Grunderkrankung typische Veränderungen.

Der Median der Dauer der Katheterintervention, wobei die Zeit von Narkoseeinleitung bis zur Ausleitung berechnet wurde lag für beide Gruppen bei 165 Minuten (Bereich: 103 - 262 Minuten). Patienten mit PDA verzeichneten im Median 179 Minuten (Bereich: 120 - 262 Minuten) im Vergleich zur Gruppe der Pulmonalstenosen mit einem Median von 140 Minuten (Bereich: 103 - 252 Minuten). Die Eingriffsdauer der beiden Gruppen zeigte keinen signifikanten Unterschied.

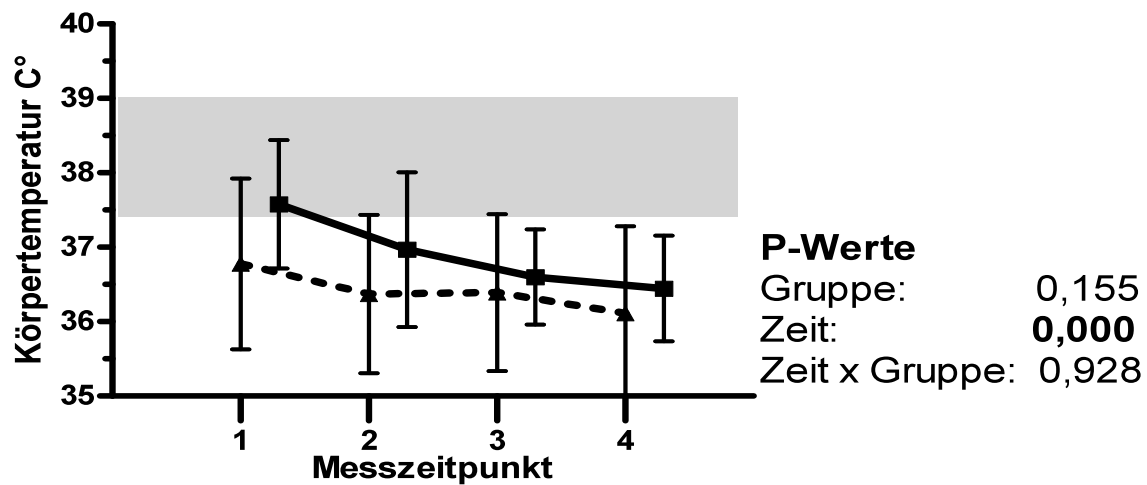
Im Verlauf der Katheterintervention sank die Körpertemperatur narkoseassoziiert signifikant ab. Es zeigt sich graphisch ein Minimum zu Zeitpunkt 4 (PDA Gruppe: 36,4 °C +/- 0,7; PS Gruppe: 36,1 °C +/- 1,2) im Vergleich zu einem Ausgangswert zu Zeitpunkt 1 von 37,6 °C (+/- 0,9) in der Gruppe der PDA-Probanden und von 36,8°C (+/- 1,1) in der Gruppe der PS. Für die Herzfrequenz hingegen waren keine signifikanten Veränderungen durch die Katheterintervention zu verzeichnen (Diagramme 1 und 2).

**Diagramm 1:**

Einfluss der Katheterintervention auf die **Herzfrequenz** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

**Diagramm 2:**

Einfluss der Katheterintervention auf die **Körpertemperatur** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

3.2.2 Primäre Hämostase

3.2.2.1 Hämatologie und Thrombozytenaktivierungsindizes

Die Thrombozytenzahl sank während des Eingriffes hochsignifikant ($p < 0,0001$) ab, wobei die niedrigsten Werte jeweils zu Zeitpunkt 3 (PDA Gruppe $229,8 \times 10^9 \text{ /l} \pm 44,35$; PS Gruppe $239,5 \times 10^9 \text{ /l} \pm 59,12$) im Vergleich zum Ausgangswert zu Zeitpunkt 1 (PDA Gruppe $283,5 \times 10^9 \text{ /l} \pm 58,21$; PS Gruppe $300,6 \times 10^9 \text{ /l} \pm 55,83$) gemessen wurden. Ein Gruppenunterschied ergab sich nicht, wie Diagramm 3 veranschaulicht. Bis auf 1/10 Hunden aus der PDA Gruppe (Zeitpunkt 4) befanden sich alle Werte innerhalb des Referenzbereiches von $151 - 474 \times 10^9 \text{ /l}$.

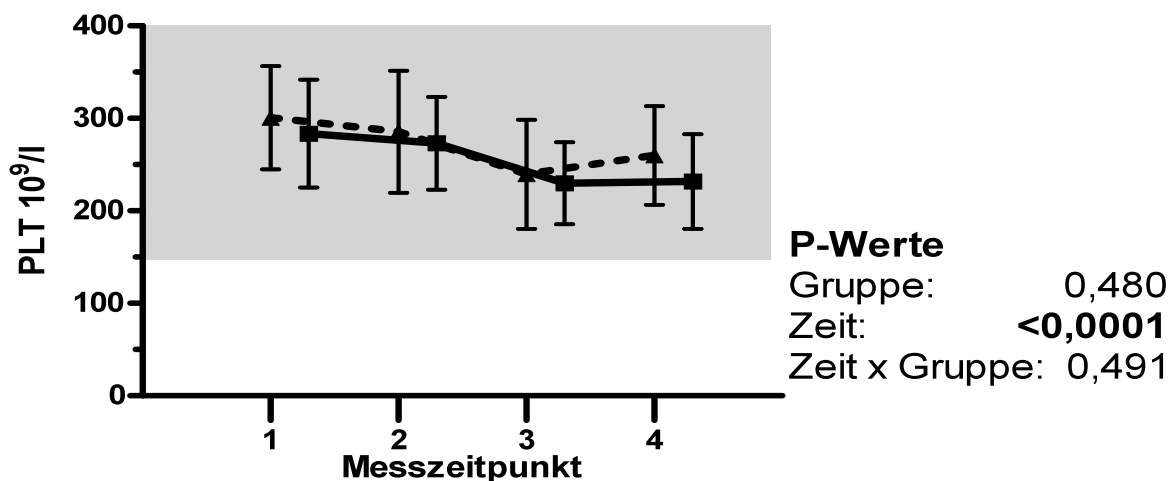


Diagramm 3:

Einfluss der Katheterintervention auf die **Thrombozytenzahl** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

Ein signifikanter Einfluss von Zeit ($p = 0,0097$) und Gruppe ($p = 0,0422$) ließ sich bezüglich der Thrombozytenaggregate (PLT Clumps) ausmachen. Während sich die

Werte der PDA Gruppe konstant hielten (Zeitpunkt 1: $39,7 \times 10^9/l \pm 35,7$; Zeitpunkt 4: $35,2 \times 10^9/l \pm 18,08$) konnte - graphisch dargestellt in Diagramm 4 - in der PS Gruppe ein deutlicher Anstieg zu Zeitpunkt 3 ($84,1 \times 10^9/l \pm 50,18$) im Vergleich zum Ausgangswert zu Zeitpunkt 1 ($38,2 \times 10^9/l \pm 15,54$) gefolgt von einem erneuten Abfall zu Zeitpunkt 4 ($41,8 \times 10^9/l \pm 17,91$) detektiert werden.

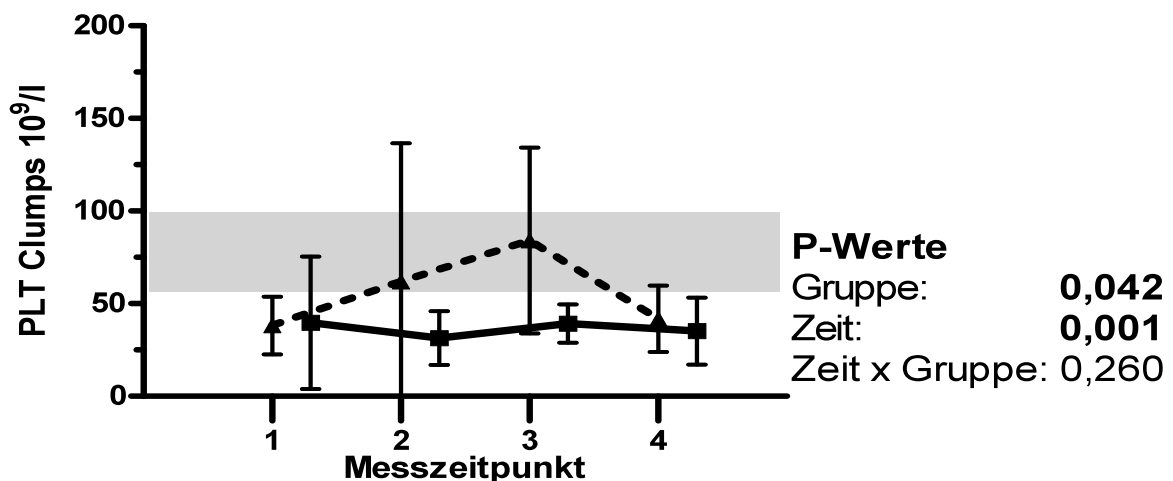


Diagramm 4:

Einfluss der Katheterintervention auf die **Thrombozytenaggregate** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

Auch die Leukozytenzahl sank infolge Katheterintervention ohne Gruppenunterschied im zeitlichen Verlauf hochsignifikant ($p < 0,0001$) ab (siehe Diagramm 5). Die niedrigsten Werte ergaben sich in beiden Gruppen zu Zeitpunkt 3 (PDA Gruppe $5,58 \times 10^9/l \pm 1,41$; PS Gruppe $6,64 \times 10^9/l \pm 1,99$) im Vergleich zum Ausgangswert zu Zeitpunkt 1 (PDA Gruppe $8,76 \times 10^9/l \pm 1,29$; PS Gruppe $9,39 \times 10^9/l \pm 2,68$). Zu Zeitpunkt 3 bzw. 4 konnten für die PDA Gruppe (7/10 bzw. 6/10

Hunden) und die PS Gruppe (4/10 bzw. 4/10 Hunden) Werte unter dem unteren Referenzwert von $5,48 \times 10^9/l$ ausgemacht werden.

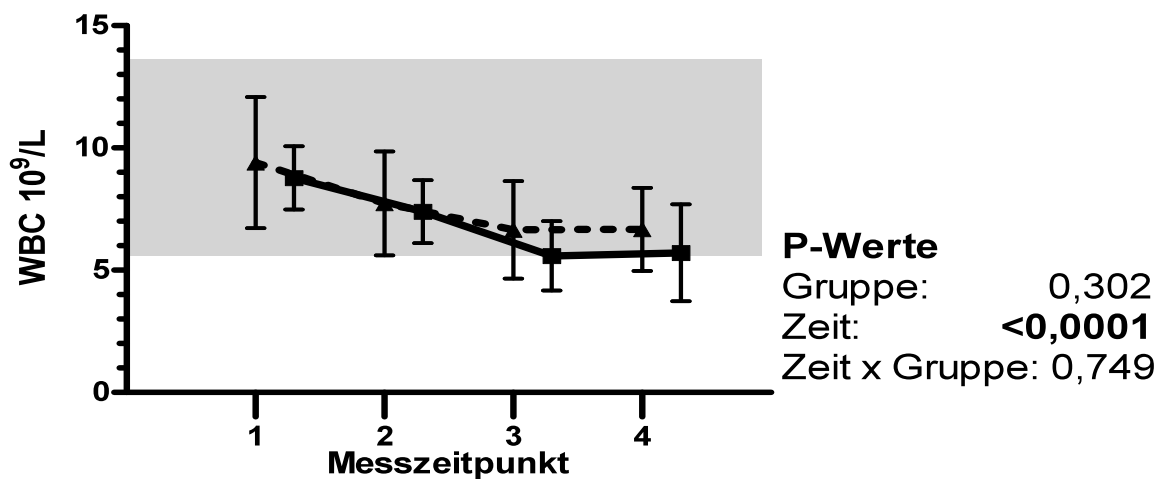


Diagramm 5:

Einfluss der Katheterintervention auf die **Leukozytenzahl** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2: nach Legen der venösen Schleuse, 3: nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

Die Katheterintervention führte zu einem hochsignifikanten ($p < 0,0001$) Absinken des Hämatokritwertes. Es zeigt sich im Diagramm 6 ein Minimum zu Zeitpunkt 3 in beiden Gruppen (PDA Gruppe 0,34 I/l \pm 0,04; PS Gruppe 0,36 I/l \pm 0,02) im Vergleich zum Ausgangswert zu Zeitpunkt 1 (PDA Gruppe 0,39 I/l \pm 0,04; PS Gruppe 0,41 \pm 0,04), wobei kein signifikanter Gruppenunterschied detektiert werden konnte. Zu Zeitpunkt 3 lag der Hämatokritwert bei 9/10 Hunden der PDA Gruppe und bei 8/10 Hunden der PS Gruppe geringgradig unter dem unteren Referenzwert von 0,39 I/l.

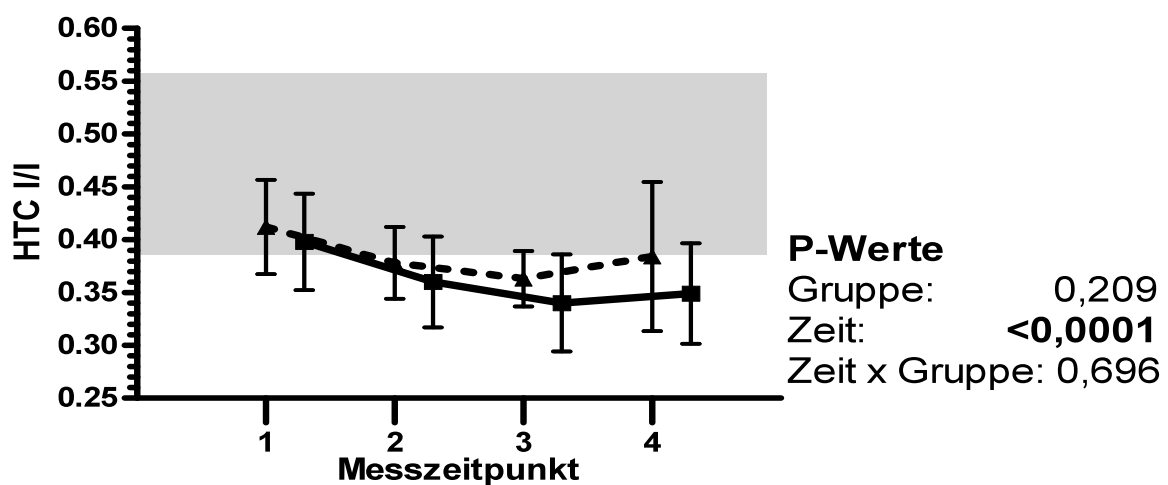


Diagramm 6:

Einfluss der Katheterintervention auf den **Hämatokrit** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

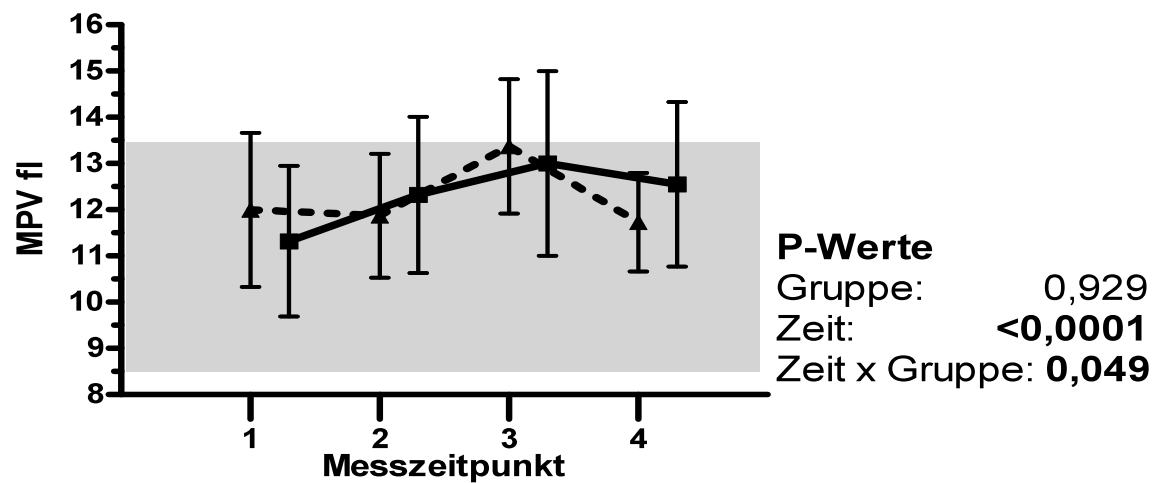
Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

Für die Thrombozytenindizes MPV, MPC und PCDW konnte je ein signifikanter Einfluss der Zeit bestätigt werden. Siehe hierzu Diagramme 7,8 und 9.

Für MPV-Werte ergaben sich zeitlich signifikante Änderungen ($p < 0,0001$) ohne signifikanten Gruppenunterschied. So zeigt die Graphik einen Anstieg während des Eingriffes im Vergleich zum Ausgangswert (PDA Gruppe 11,32 fl +/- 1,62; PS Gruppe 11,99 fl +/- 1,66) mit Maximum zu Zeitpunkt 3 (PDA Gruppe 13 fl +/- 1,99; PS Gruppe 13,37 fl +/- 1,45) und Absinken zu Zeitpunkt 4 (PDA Gruppe 12,55 fl +/- 1,77; PS Gruppe 11,73 fl +/- 1,06). Hier ergab sich zudem eine signifikante Interaktion zwischen Gruppe und Zeit d.h. bei den Hunden mit PS war ein steileres Ansteigen und Absinken des MPV nachweisbar als bei den Hunden mit PDA ($p = 0,0495$).

Der MPC als Marker für die Granularität und somit den Aktivierungsgrad der Thrombozyten zeigte im Verlauf der Intervention hochsignifikante Veränderungen bezüglich des Faktors Zeit. In der graphischen Darstellung stellt sich ein Absinken im Vergleich zum Ausgangswert (PDA Gruppe 20,36 g/dl +/- 1,02; PS Gruppe 20,03 g/dl +/- 1,72) mit Minimum zu Zeitpunkt 3 (PDA Gruppe 18,8 g/dl +/- 1,63; PS Gruppe 18,59 g/dl +/- 1,23) dar, während die MPC-Werte zu Zeitpunkt 4 erneut steigen (PDA Gruppe 19,19 g/dl +/- 1,43; PS Gruppe 20,35 g/dl +/- 0,95) ($p = 0,0001$).

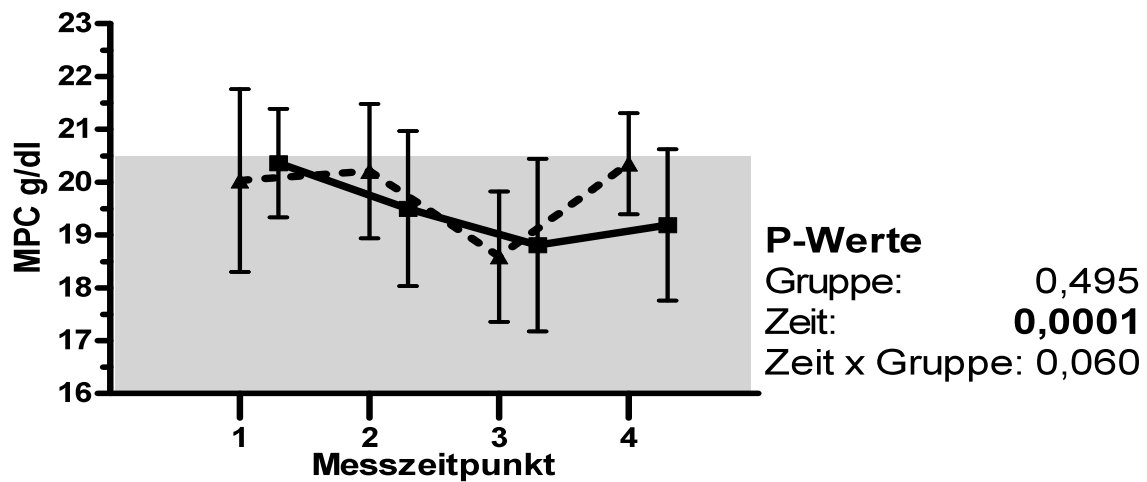
Die Verteilungsbreite des MPC, der PCDW zeigte während der Katheterintervention zeitlich signifikante Veränderungen ($p = 0,0011$) ohne Gruppenunterschied. Graphisch stellt sich ein jeweiliges Maximum zu Zeitpunkt 3 (PDA Gruppe 7,81 g/dl +/- 0,37; PS Gruppe 7,78 g/dl +/- 0,51) im Vergleich zum Ausgangswert zu Zeitpunkt 1 (PDA Gruppe 7,05 g/dl +/- 0,67; PS Gruppe 7,27 +/- 0,67) dar.

**Diagramm 7:**

Einfluss der Katheterintervention auf den **MPV** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

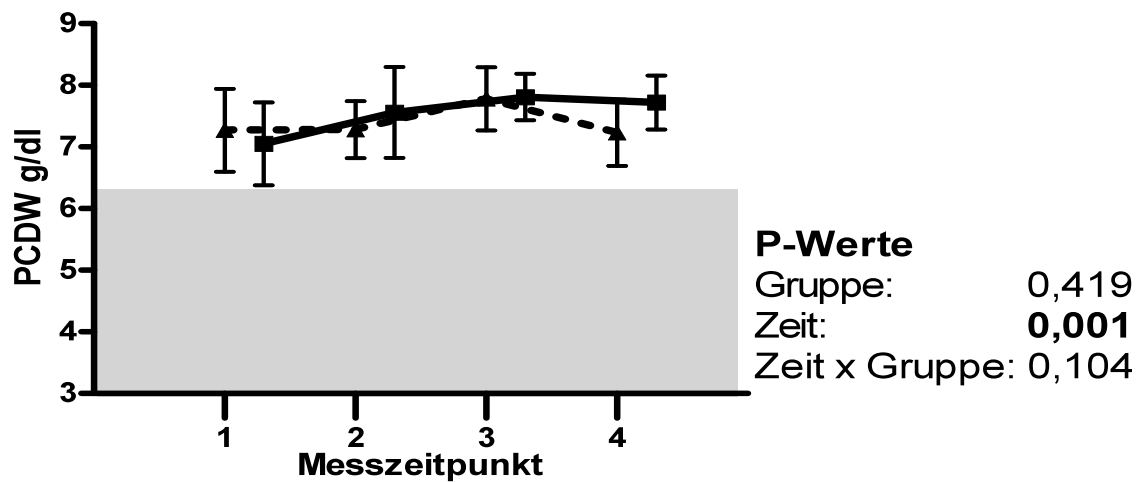
Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

**Diagramm 8:**

Einfluss der Katheterintervention auf den **MPC** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

**Diagramm 9:**

Einfluss der Katheterintervention auf den **PCDW** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

Wie aus den Diagrammen 10 und 11 ersichtlich, hatte die Katheterintervention keinen signifikanten Einfluss auf die Anzahl großer Thrombozyten (large platelets) und den MPM.

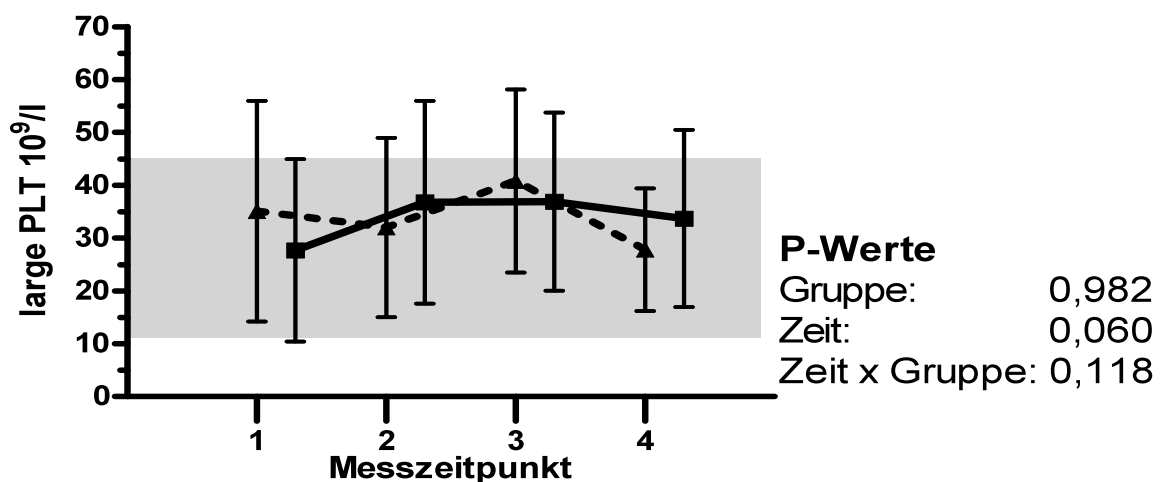
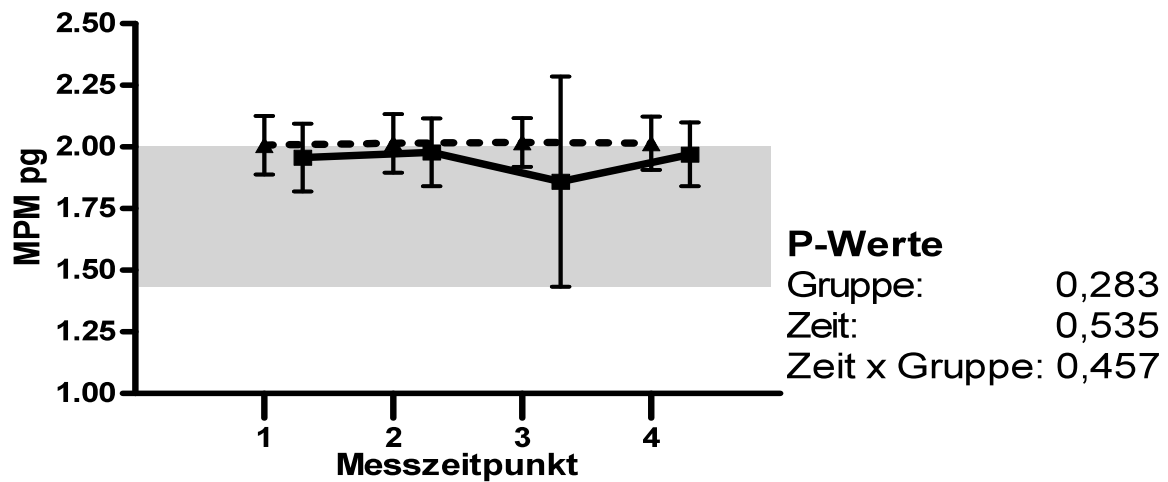


Diagramm 10:

Einfluss der Katheterintervention auf die **Anzahl großer Thrombozyten** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

**Diagramm 11:**

Einfluss der Katheterintervention auf den **MPM** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

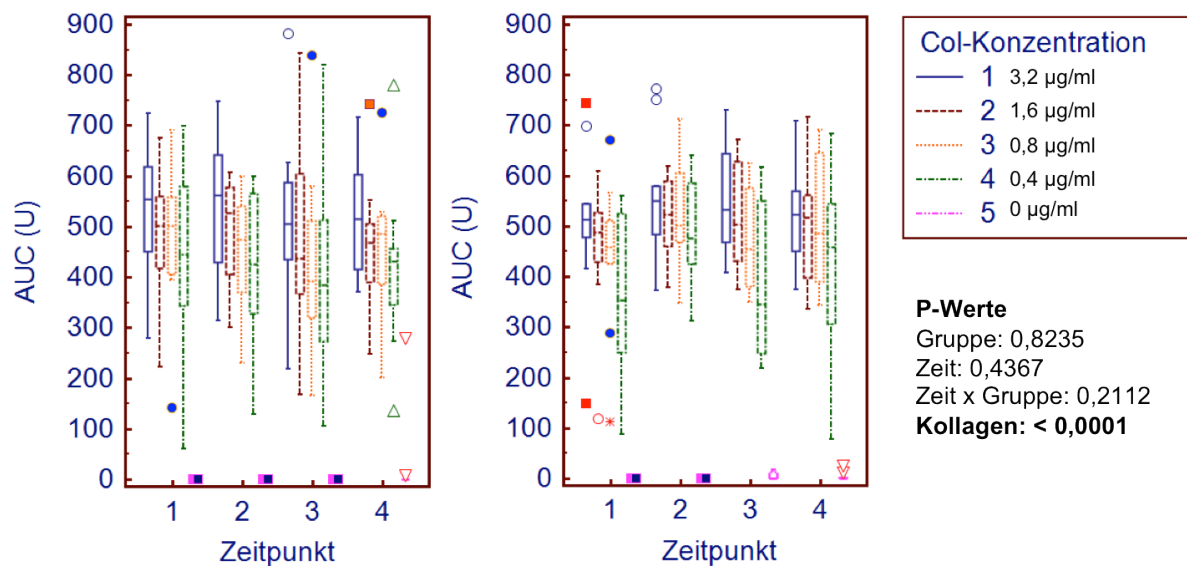
Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

3.2.2.2 Vollblut-Impedanzaggregometrie

Bezüglich der Untersuchung der Thrombozytenfunktion am Multiplate® konnten zwei statistische Signifikanzen ($p < 0,0001$) detektiert werden, die in den Diagrammen 12, 13 und 14 graphisch dargestellt sind.

Zum einen zeigte sich, wie zu erwarten, eine signifikante Beeinflussung aller Messparameter (AUC, Aggregation und Velocity) in beiden Gruppen im Hinblick auf die unterschiedlichen Kollagenkonzentrationen, wobei die Kollagenkonzentration $0,8\mu\text{g/ml}$ die deutlichsten Unterschiede in der Thrombozytenaktivierung ergab.

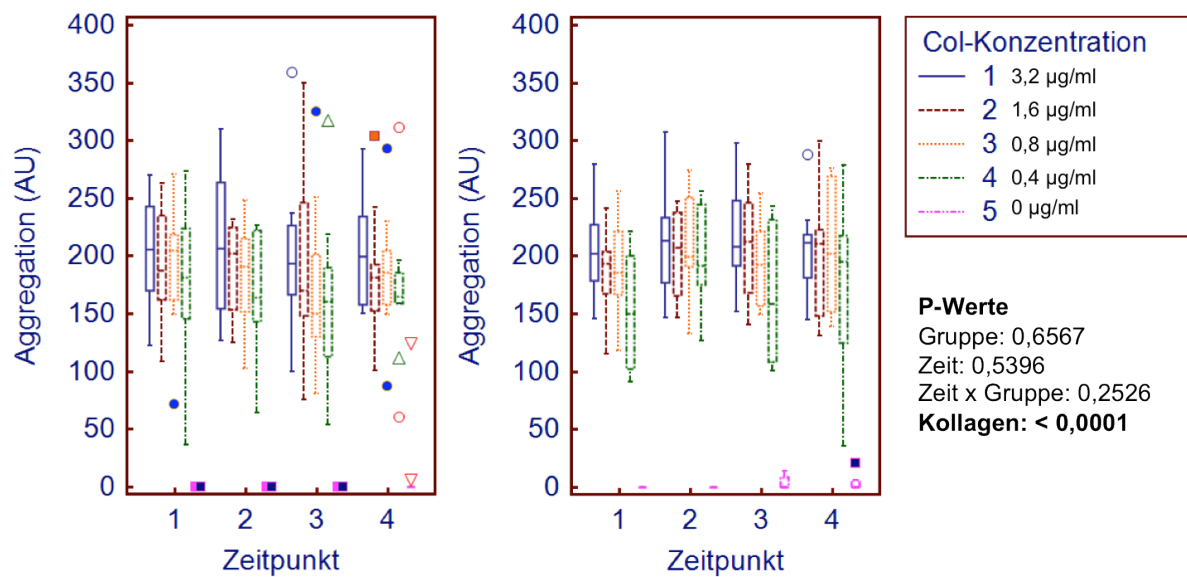
Weiterhin konnte ein hochsignifikantes Absinken der Velocity im zeitlichen Verlauf mit graphischem Minimum zu Zeitpunkt 3 (nach Intervention) festgestellt werden.

**Diagramm 12:**

Einfluss der Katheterintervention auf die **AUC** (Area Under the Curve) bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA). Die statistisch signifikanten p-Werte sind fett gedruckt. Die verschiedenen Farben beschreiben die verwendete Kollagenkonzentration.

Die Werte vom unteren bis oberen Quartil entsprechen der zentralen Box, die Mittellinie dem Median. Die vertikale Linie reicht vom Minimal- bis zum Maximalwert, schließt aber „außerhalb“- und „weit außerhalb“-Werte aus, die separat markiert sind. „Außerhalb“-Werte sind definiert als Werte, die kleiner sind als das untere Quartil minus den 1,5fachen Interquartilbereich oder größer als das obere Quartil plus den 1,5fachen Interquartilbereich. Diese sind als Quadrate aufgetragen. „Weit außerhalb“-Werte sind definiert als das obere bzw. das untere Quartil plus/minus den 3fachen Interquartilbereich und als Kreise dargestellt.

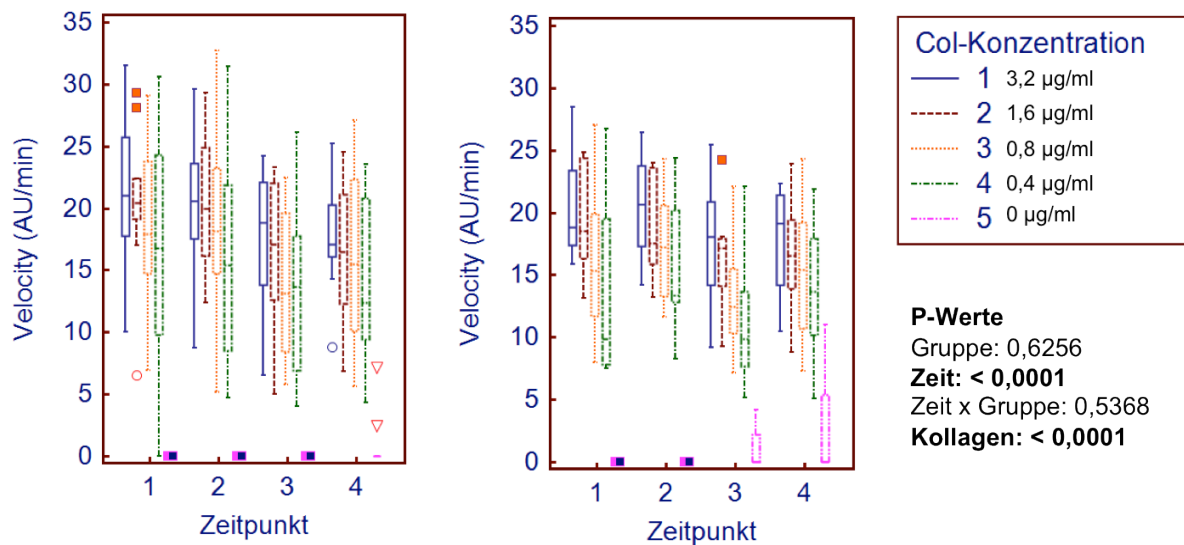
Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

**Diagramm 13:**

Einfluss der Katheterintervention auf die **AU** (Aggregation) bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA). Die statistisch signifikanten p-Werte sind fett gedruckt. Die verschiedenen Farben beschreiben die verwendete Kollagenkonzentration.

Die Werte vom unteren bis oberen Quartil entsprechen der zentralen Box, die Mittellinie dem Median. Die vertikale Linie reicht vom Minimal- bis zum Maximalwert, schließt aber „außerhalb“- und „weit außerhalb“-Werte aus, die separat markiert sind. „Außerhalb“-Werte sind definiert als Werte, die kleiner sind als das untere Quartil minus den 1,5fachen Interquartilbereich oder größer als das obere Quartil plus den 1,5fachen Interquartilbereich. Diese sind als Quadrate aufgetragen. „Weit außerhalb“-Werte sind definiert als das obere bzw. das untere Quartil plus/minus den 3fachen Interquartilbereich und als Kreise dargestellt.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

**Diagramm 14:**

Einfluss der Katheterintervention auf die **Velocity** (Geschwindigkeit der Gerinnselbildung) bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA). Die statistisch signifikanten p-Werte sind fett gedruckt. Die verschiedenen Farben beschreiben die verwendete Kollagenkonzentration.

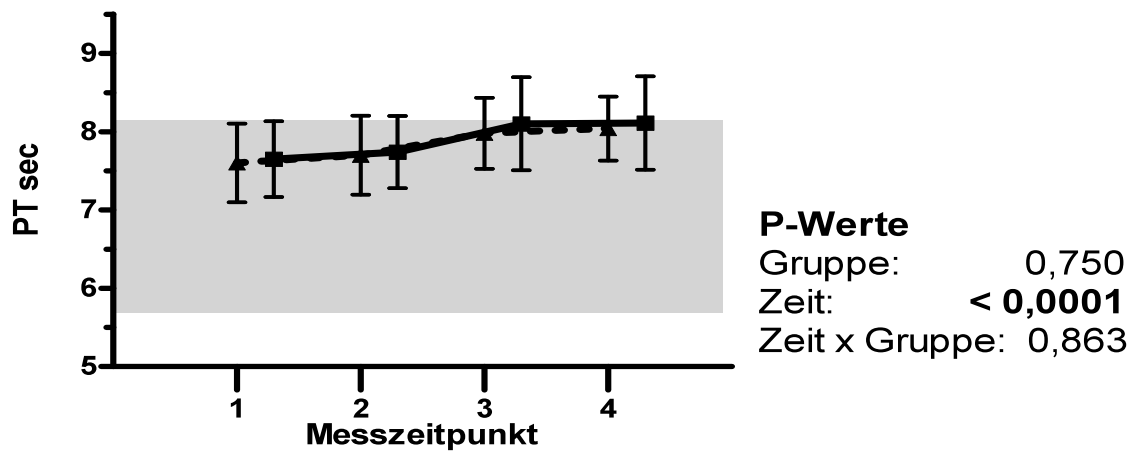
Die Werte vom unteren bis oberen Quartil entsprechen der zentralen Box, die Mittellinie dem Median. Die vertikale Linie reicht vom Minimal- bis zum Maximalwert, schließt aber „außerhalb“- und „weit außerhalb“-Werte aus, die separat markiert sind. „Außerhalb“-Werte sind definiert als Werte, die kleiner sind als das untere Quartil minus den 1,5fachen Interquartilbereich oder größer als das obere Quartil plus den 1,5fachen Interquartilbereich. Diese sind als Quadrate aufgetragen. „Weit außerhalb“-Werte sind definiert als das obere bzw. das untere Quartil plus/minus den 3fachen Interquartilbereich und als Kreise dargestellt.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

3.2.3 Sekundäre Hämostase

Die Katheterintervention führte zu einem zeitlich hochsignifikanten ($p < 0,0001$) Anstieg der PT. Graphisch zeigt sich das Maximum zu Zeitpunkt 4 (PDA Gruppe 8,1 sec \pm 0,6; PS Gruppe 8,0 sec \pm 0,4) im Vergleich zum Ausgangswert zu Zeitpunkt 1 (PDA Gruppe 7,7 sec \pm 0,5; PS Gruppe 7,6 sec \pm 0,5). Es war kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen nachweisbar. Insgesamt lag die PT bei 5/10 Hunden der PDA Gruppe und bei 3/10 Hunden der PS Gruppe zu Zeitpunkt 4 geringgradig über dem oberen Referenzbereich von 8,1 sec (siehe Diagramm 15).

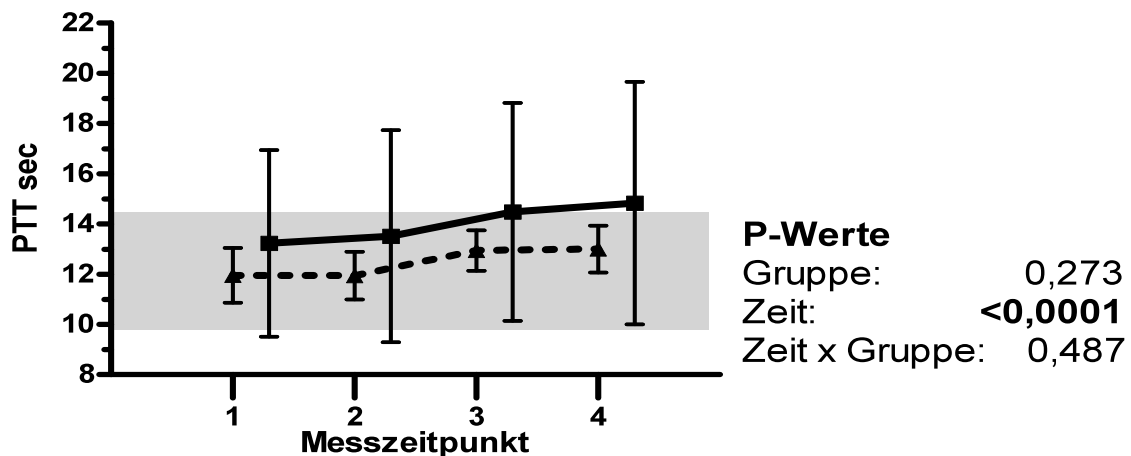
Ebenso kam es im zeitlichen Verlauf des Kathetereingriffes - wie in Diagramm 16 zu sehen - zu einem hochsignifikanten Anstieg ($p < 0,0001$) der aPTT mit einem graphischen Maximum zu Zeitpunkt 4 (PDA Gruppe 14,8 sec \pm 4,8; PS Gruppe 13,0 sec \pm 0,9) im Vergleich zum Ausgangswert zu Zeitpunkt 1 (PDA Gruppe 13,2 sec \pm 3,7; PS Gruppe 12,0 sec \pm 1,1). Die Werte der Tiere aus der PS Gruppe lagen deutlich, wenn auch nicht signifikant ($p = 0,273$) unter denen der PDA Gruppe. Bei je 2 Probanden aus beiden Gruppen lagen die Werte zu Zeitpunkt 4 geringgradig über dem oberen Referenzbereich von 14,3 sec.

**Diagramm 15:**

Einfluss der Katheterintervention auf die **Prothrombinzeit** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

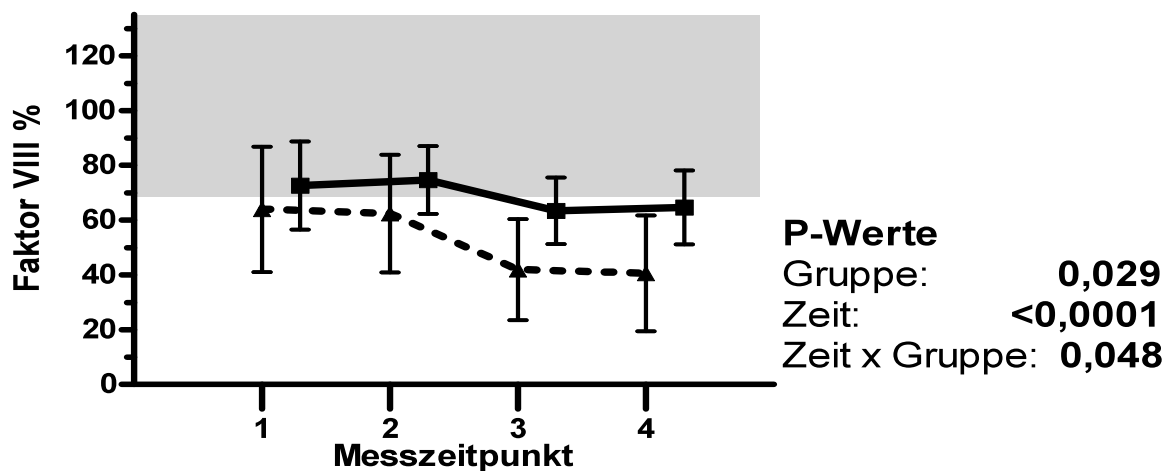
Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

**Diagramm 16:**

Einfluss der Katheterintervention auf die **aktivierte partielle Thromboplastinzeit** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

**Diagramm 17:**

Einfluss der Katheterintervention auf die Konzentration von **Faktor VIII** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

Diagramm 17 zeigt den hochsignifikanten ($p < 0,0001$) Abfall der Faktor VIII-Konzentration infolge Katheterintervention. Es zeigt sich ein Minimum zu Zeitpunkt 3 in der PDA Gruppe (63,4% \pm 13,49) und zu Zeitpunkt 4 in der PS Gruppe (40,6% \pm 21,16) im Vergleich zum Ausgangswert (PDA Gruppe 72,6 \pm 16,09; PS Gruppe 63,9% \pm 22,91). Zudem ergaben sich insgesamt signifikant ($p = 0,029$) niedrigere Werte für die Probanden mit PS, wobei zu Zeitpunkt 3 9/10 Hunden der PDA Gruppe und zu Zeitpunkt 4 9/10 Hunden der PS Gruppe Werte unterhalb des unteren Referenzwertes von 70,9 % aufwiesen.

Zusätzlich konnte hier eine signifikante ($p = 0,048$) Interaktion zwischen Gruppe und Zeit d.h. ein unterschiedlicher Verlauf der beiden Kurven nachgewiesen werden.

Die Fibrinogenkonzentration sank, wie im Diagramm 18 zu sehen im Verlauf des Eingriffes hochsignifikant ab. Das Minimum stellt sich graphisch in beiden Gruppen zu Zeitpunkt 3 dar (PDA Gruppe 1,82 g/l \pm 0,37; PS Gruppe 1,53 g/l \pm 0,19). Der Ausgangswert zu Zeitpunkt 1 lag in der PDA Gruppe bei 2,14 g/l \pm 0,5 und in der PS Gruppe bei 1,84 g/l \pm 0,33. Die Patienten mit PS wiesen im Vergleich zu den Probanden mit PDA signifikant ($p = 0,045$) niedrigere Ergebnisse auf. Insgesamt unterschritten zum Zeitpunkt 3 2/10 Hunde mit PDA und 1/10 Hunden mit PS geringgradig den unteren Referenzbereich von 1,3 g/l.

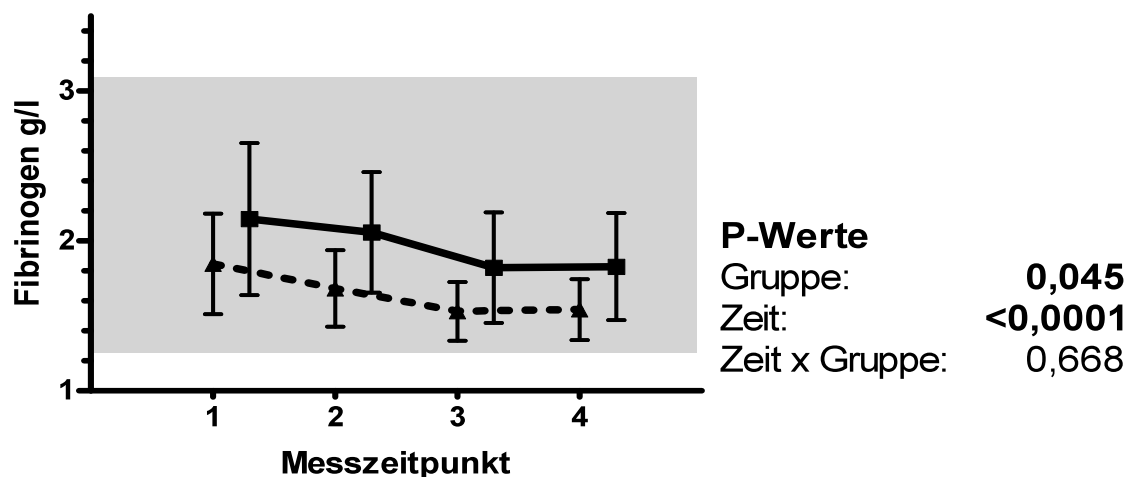


Diagramm 18:

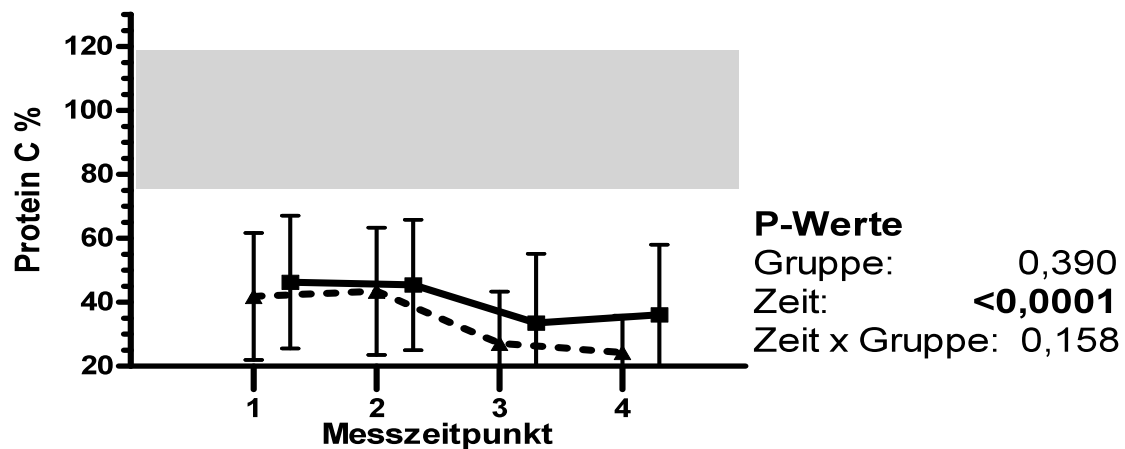
Einfluss der Katheterintervention auf die Konzentration von **Fibrinogen** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

3.2.4 Natürliche Inhibitoren und Fibrinolyse

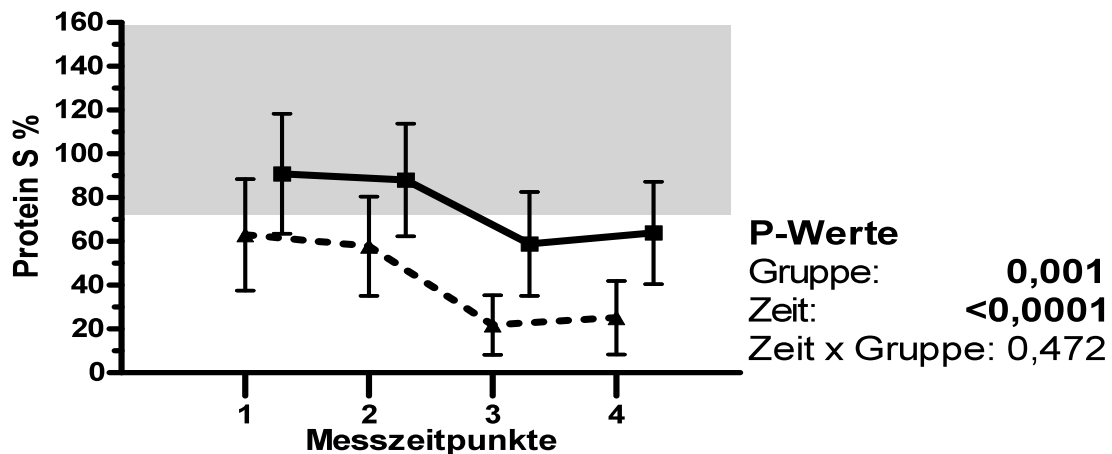
Sowohl Protein C als auch Protein S sanken im Verlauf des Eingriffes hochsignifikant ab. Für Protein C ergab sich in der PDA Gruppe ein Minimum zu Zeitpunkt 3 (33,5 % +/- 21,68) im Vergleich zum Ausgangswert (46,3 % +/- 20,74) und in der PS Gruppe zu Zeitpunkt 4 (24,3 % +/- 11,52) im Vergleich zum Ausgangswert (41,8 % +/- 19,84). Die Werte der PS Gruppe lagen - wenn auch nicht signifikant - unterhalb derer der PDA Gruppe. Für Protein S konnte der Minimalwert in beiden Gruppen zu Zeitpunkt 3 (PDA Gruppe 58,9 % +/- 23,76; PS Gruppe 21,8 % +/- 13,58) im Vergleich zu Ausgangswerten von 90,9 % +/- 27,43 in der PDA Gruppe und 63% +/- 25,45 bei Patienten mit PS ausgemacht werden. Die Ergebnisse der PS Gruppe lagen signifikant unter denen der PDA Gruppe ($p = 0,0014$). Unterhalb des Referenzbereiches lagen zu Zeitpunkt 3 6/10 Hunden der PDA Gruppe sowie 10/10 Hunden der PS Gruppe (siehe Diagramme 19 und Protein 20). Bezüglich der Messungen der D-Dimere zeigte sich in beiden Gruppen ein signifikanter ($p = 0,0296$) Anstieg während der Katheterintervention mit einem Maximum zu Zeitpunkt 4 (PDA Gruppe 0,26 $\mu\text{g/ml}$ +/- 0,23; PS Gruppe 0,19 $\mu\text{g/ml}$ +/- 0,12) im Vergleich zum Ausgangswert zu Zeitpunkt 1 (PDA Gruppe 0,19 $\mu\text{g/ml}$ +/- 0,11; PS Gruppe 0,12 $\mu\text{g/ml}$ +/- 0,08). Ein signifikanter Gruppenunterschied ergab sich nicht. Je ein Tier der PDA Gruppe überschritt zu Zeitpunkt 3 bzw. 4 geringgradig den oberen Referenzbereich von 0,65 $\mu\text{g/ml}$.

**Diagramm 19:**

Einfluss der Katheterintervention auf die Konzentration von **Protein C** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

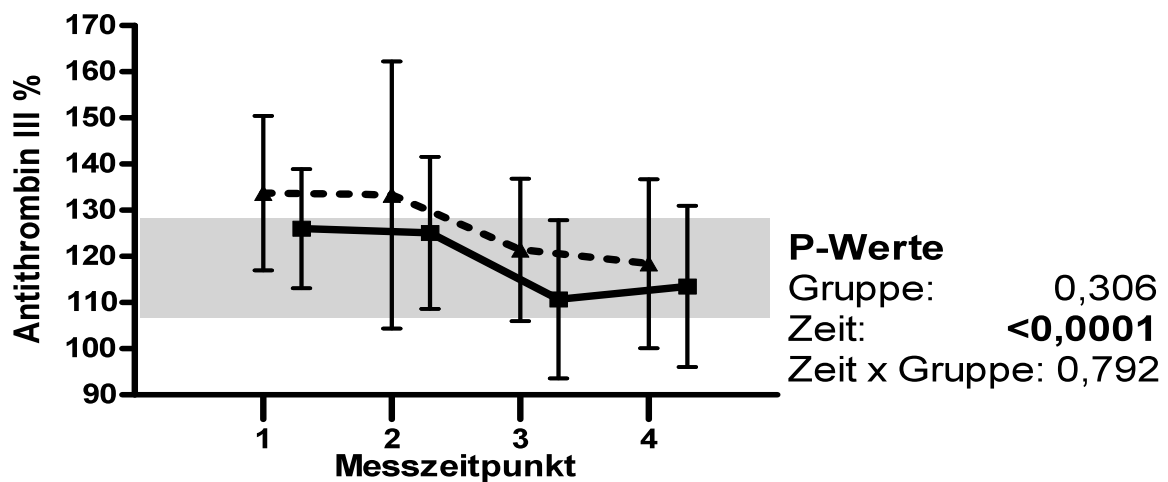
**Diagramm 20:**

Einfluss der Katheterintervention auf die Konzentration von **Protein S** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

Auch die ATIII-Konzentration sank in beiden Gruppen während der Kathetereintervention hochsignifikant ($p < 0,0001$) ab, bis auf ein graphisch dargestelltes Minimum zu Zeitpunkt 3 in der PDA Gruppe (111 % \pm 17,1) bzw. zu Zeitpunkt 4 in der PS Gruppe (118 % \pm 18,28) im Vergleich zu den Ausgangswerten zu Zeitpunkt 1 (PDA Gruppe 126 % \pm 12,8; PS Gruppe 133% \pm 16,7). Zu Zeitpunkt 3 bzw. 4 unterschritten 4/10 bzw. 3/10 Hunde der PDA bzw. PS Gruppe den unteren Referenzbereich von 107,9 % geringgradig. Ein statistisch signifikanter Gruppenunterschied ließ sich nicht ausmachen, wobei die Werte der PDA Patienten tendenziell unterhalb derer der PS Gruppe liegen, wie Diagramm 21 zeigt.

**Diagramm 21:**

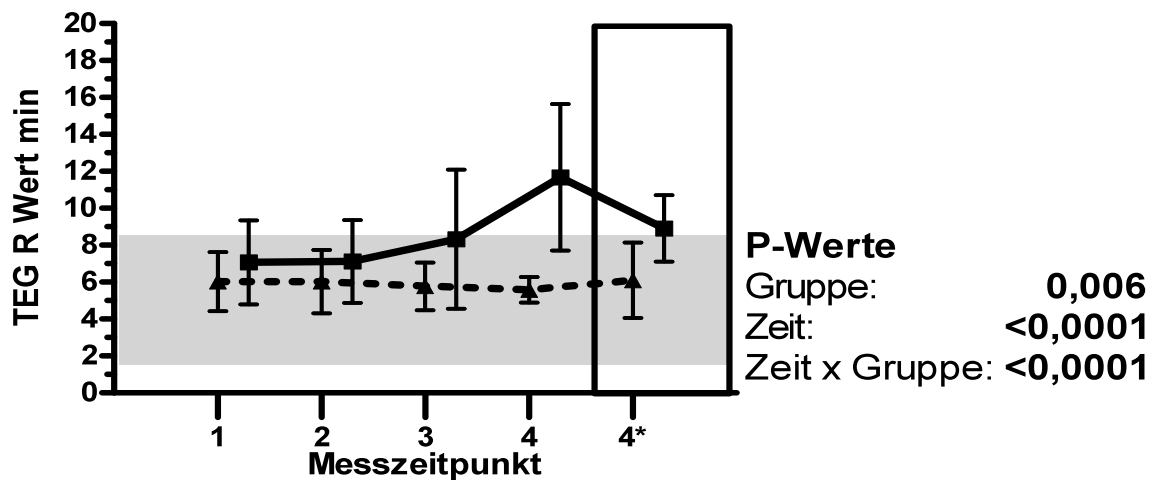
Einfluss der Katheterintervention auf die Konzentration von **Antithrombin III** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention

3.2.5 Globaltests der Gerinnung – TEG

Der R-Wert, dargestellt in Diagramm 22, zeigte im zeitlichen Verlauf des Kathetereingriffes in der PDA Gruppe einen hochsignifikanten ($p < 0,0001$) Anstieg. Die Graphik veranschaulicht ein Maximum zu Zeitpunkt 4 (11,67 min +/- 3,97) im Vergleich zum Ausgangswert zu Zeitpunkt 1 (7,07 min +/- 2,27). Zudem ließ sich ein signifikanter Gruppenunterschied ($p = 0,006$) und eine hochsignifikante Interaktion zwischen Gruppe und Zeit ($p < 0,0001$) nachweisen. Die Werte der PS Probanden blieben über den gesamten Eingriff weitgehend konstant (Ausgangswert: 6,02 min +/- 1,59; Zeitpunkt 4: 5,58 min +/- 0,69). Zu Zeitpunkt 4 bzw. 4* lagen 6 bzw. 7/10 Hunden aus der PDA Gruppe geringgradig über dem oberen Referenzwert von 8,6 min, wohingegen zu diesen Zeitpunkten keiner bzw. 1/10 Hunden aus der PS Gruppe den oberen Referenzwert überschreitet.

**Diagramm 22:**

Einfluss der Katheterintervention auf den **R-Wert** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention, 4*) Parallelmessung zu Messzeitpunkt 4 mit Heparinasecup

Der Rahmen um Messzeitpunkt 4* verdeutlicht, dass es sich nicht um einen zeitlichen, sondern methodischen Unterschied handelt

Für den K-Wert zeigten sich ebenfalls in der Gruppe der PS-Patienten relativ konstante Werte über die Dauer des Eingriffes (Ausgangswert: 2,27 min +/- 0,79; Zeitpunkt 4: 2,53 min +/- 1,39), was Diagramm 23 zu entnehmen ist. Dagegen konnte bei den PDA-Patienten ein signifikanter Anstieg ($p = 0,021$) detektiert werden. Graphisch zeigen sich Höchstwerte zu Zeitpunkt 4 (4,51 min +/- 2,18) im Vergleich zum Ausgangswert (2,52 min +/- 0,65), was auf einen Heparineffekt zurückzuführen ist, da die Parallelmessung mit Heparinasecup (Zeitpunkt 4*: 2,75 min +/- 0,70) ähnliche Werte wie zu Zeitpunkt 3 (2,81 min +/- 1,35) ergab. Hier lag ebenfalls eine hochsignifikante Interaktion zwischen Gruppe und Zeit d.h. ein unterschiedlicher Kurvenverlauf während der Katheterintervention vor, was auf den Anstieg des K-

Wertes in der PDA Gruppe zum Zeitpunkt 4 zurückzuführen ist, der nicht in der Pulmonalstenosegruppe nachweisbar war ($p < 0,0001$).

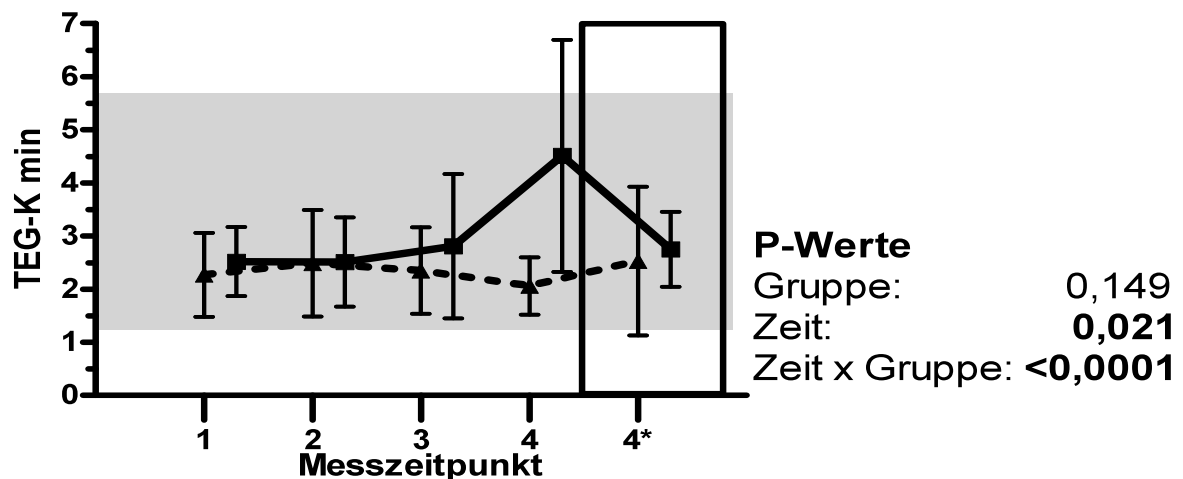


Diagramm 23:

Einfluss der Katheterintervention auf den **K-Wert** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention, 4*) Parallelmessung zu

Messzeitpunkt 4 mit Heparinasecup

Der Rahmen um Messzeitpunkt 4* verdeutlicht, dass es sich nicht um einen zeitlichen, sondern methodischen Unterschied handelt

Diagramm 24 veranschaulicht die Werte für den Winkel α . Hier zeigten die Probanden der PS-Gruppe konstante Werte (Zeitpunkt 1: $59,85^\circ \pm 8,68$; Zeitpunkt 4: $62,19^\circ \pm 6,25$), während in der PDA-Gruppe ein signifikantes Absinken ($p = 0,0351$) mit graphischem Minimum zu Zeitpunkt 4 ($43,4^\circ \pm 15,79$) im Vergleich zum Ausgangswert zu Zeitpunkt 1 ($56,2^\circ \pm 8,75$) festgestellt werden konnte. Allerdings zeigte sich auch in der Parallelmessung mit Heparinase (Zeitpunkt 4*: $55,77^\circ \pm 8,88$) kein Absinken im Vergleich zum vorangegangenen Messzeitpunkt 3 ($55,71^\circ$).

+/- 11,38), was die statistische Relevanz relativiert. Es konnte eine hochsignifikante Gruppen-Zeit-Interaktion ($p < 0,0001$) nachgewiesen werden.

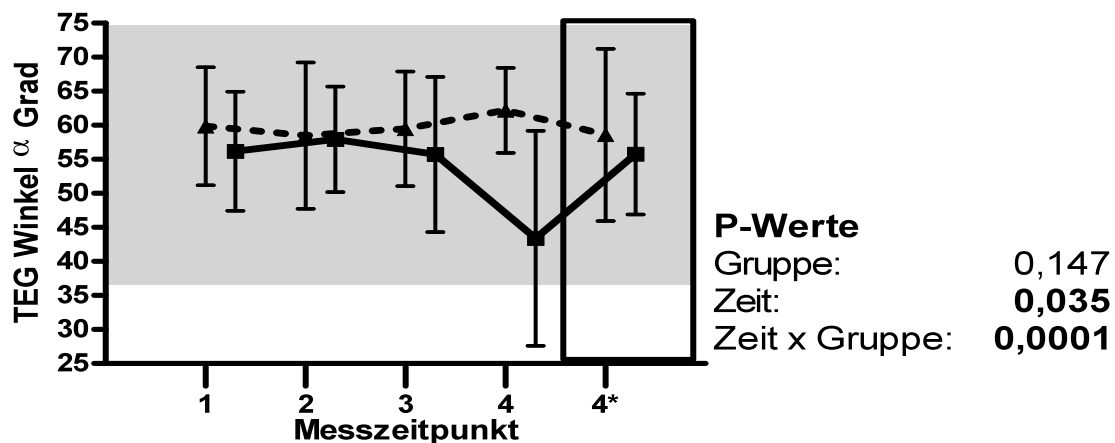


Diagramm 24:

Einfluss der Katheterintervention auf den **Winkel α** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention, 4*) Parallelmessung zu Messzeitpunkt 4 mit Heparinasecup

Der Rahmen um Messzeitpunkt 4* verdeutlicht, dass es sich nicht um einen zeitlichen, sondern methodischen Unterschied handelt

Der MA-Wert zeigte bezüglich des Faktors Zeit eine statistische Signifikanz ($p < 0,020$) während der Katheterintervention. Ein graphisches Minimum ist zu Zeitpunkt 3 bzw. 4 im Diagramm 25 nachzuvollziehen.

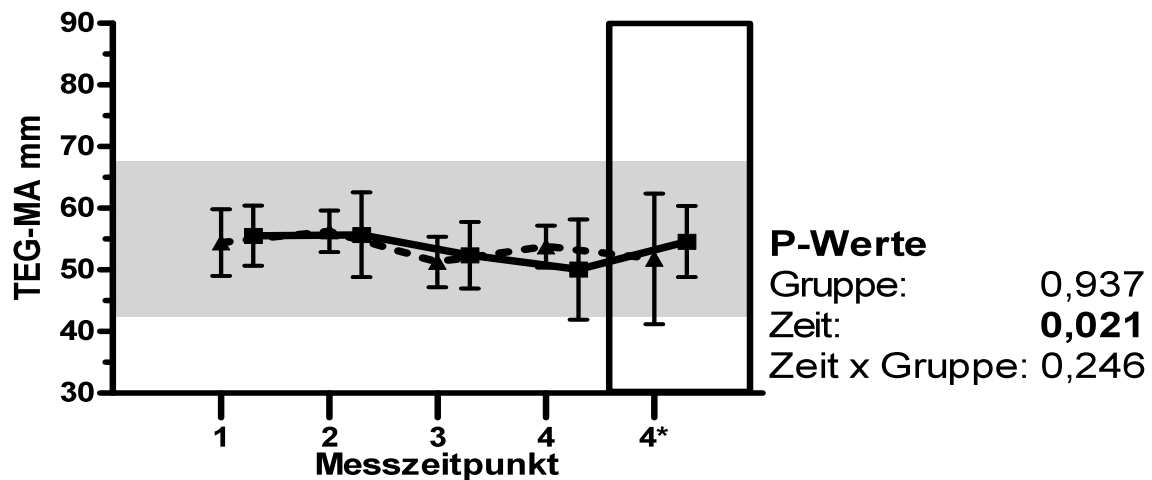


Diagramm 25:

Einfluss der Katheterintervention auf den **MA-Wert** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention, 4*) Parallelmessung zu Messzeitpunkt 4 mit Heparinasecup

Der Rahmen um Messzeitpunkt 4* verdeutlicht, dass es sich nicht um einen zeitlichen, sondern methodischen Unterschied handelt

Wie aus Diagramm 26 zu entnehmen, ergaben sich während der Intervention keinerlei Signifikanzen für den G-Wert. In der Gruppe der PDA Patienten lagen zu Zeitpunkt 1 und 2 je einer von 10 Hunden geringgradig über dem oberen Referenzwert von 9,6 Kdyn/min; in der PS Gruppe lag einer von 10 Hunden zu Zeitpunkt 4* mit 16,5 Kdyn/min deutlich über dem oberen Referenzwert.

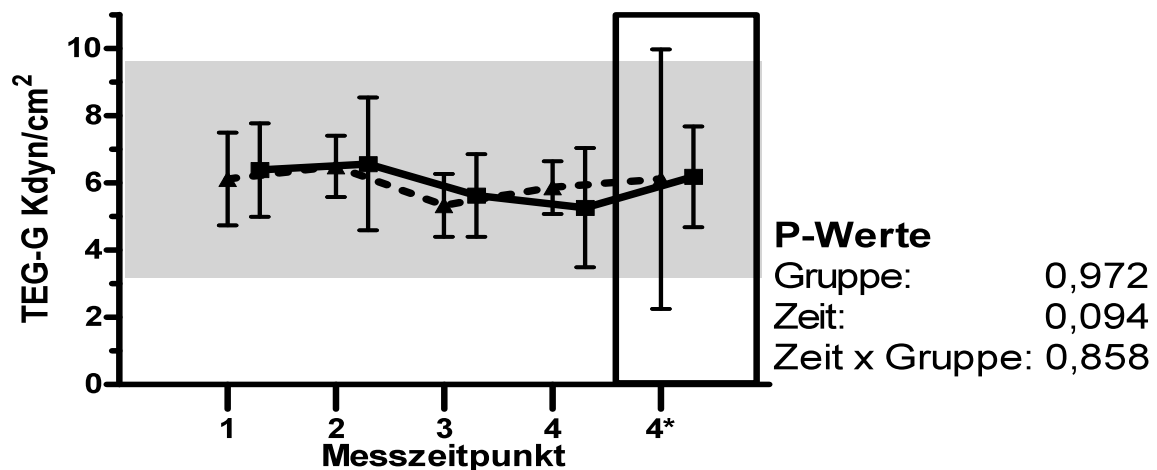


Diagramm 26:

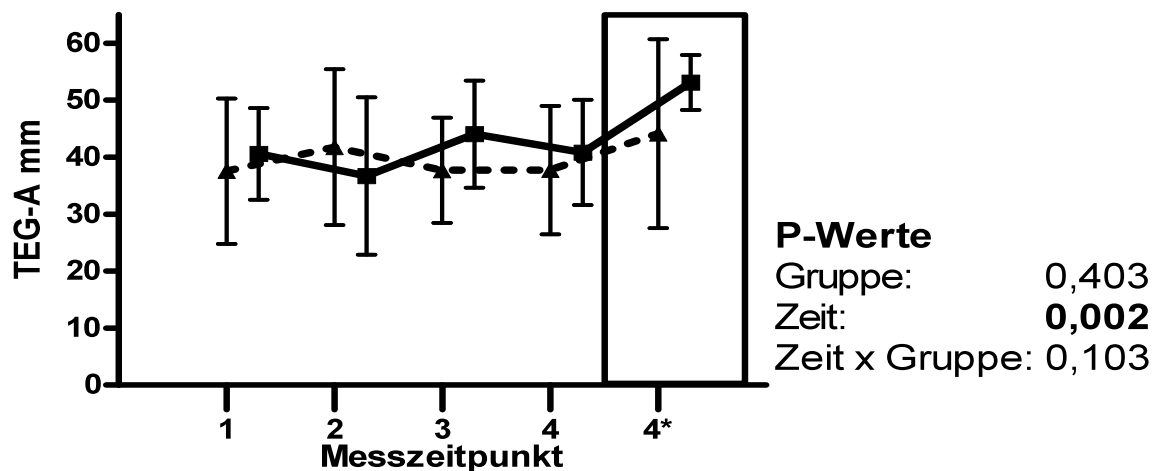
Einfluss der Katheterintervention auf den **G-Wert** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist grau unterlegt, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt.

Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention, 4*) Parallelmessung zu

Messzeitpunkt 4 mit Heparinasecup

Der Rahmen um Messzeitpunkt 4* verdeutlicht, dass es sich nicht um einen zeitlichen, sondern methodischen Unterschied handelt

**Diagramm 27:**

Einfluss der Katheterintervention auf den **A-Wert** bei Hunden mit Pulmonalstenose (PS, unterbrochene Linie) und persistierendem Ductus arteriosus botalli (PDA, durchgezogene Linie). Das Referenzintervall ist bisher nicht für den Hund etabliert und daher nicht eingezeichnet, die statistisch signifikanten p-Werte fett gedruckt. Aufgetragen sind die Mittelwerte als Quadrate (PDA-Gruppe) bzw. als Dreiecke (PS-Gruppe) mit Standardabweichung als vertikale Linie.

Messzeitpunkte: 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Intervention (in PDA-Gruppe nach Platzierung des ACDO, in PS-Gruppe nach Ballondilatation), 4) 30 Minuten nach Intervention, 4*) Parallelmessung zu Messzeitpunkt 4 mit Heparinasecup

Der Rahmen um Messzeitpunkt 4* verdeutlicht, dass es sich nicht um einen zeitlichen, sondern methodischen Unterschied handelt

Für den A-Wert, dessen Werte im Diagramm 27 graphisch dargestellt sind konnte ein zeitlich signifikanter Anstieg ($p = 0,001$) während des Kathethereingriffes beobachtet werden. Der höchste Wert wurde in beiden Gruppen zu Zeitpunkt 4* (PDA Gruppe 53,1 mm \pm 4,82; PS Gruppe 44,12 mm \pm 16,59) im Vergleich zum Ausgangswert zu Zeitpunkt 1 (PDA Gruppe 40,58 mm \pm 8,05; PS Gruppe 37,54 mm \pm 12,74) gemessen.

4 DISKUSSION

Die Erforschung der Pathophysiologie der katheterassoziierten Thrombophilie hat in der Humanmedizin bereits seit vielen Jahren große Bedeutung.

Als eine der ersten Arbeitsgruppen untersuchten Formanek und Mitarbeiter das Problem der katheterinduzierten Thrombusbildung beim Menschen. In den späten sechziger Jahren konnten sie bei über der Hälfte der untersuchten Probanden (50 von 93), die eine arterielle Katheterisierung erhielten angiographisch die Entstehung eines Thrombus detektieren. Es konnte unter anderem ein Einfluss der Verweildauer festgestellt werden so zeigten Katheter, die weniger als 30 Minuten lagen signifikant weniger Thrombusformation als solche, die über 30 Minuten verblieben (Formanek G et al., 1970). Debrun et al. beschrieben als Hauptkomplikation der vaskulären Katheterisierung die iatrogene Thrombembolie, wobei sie neben dem zeitlichen Einfluss auch ein steigendes thrombogenes Potential proportional zum Lumen des Katheters aufzeigen konnten. Zudem verzeichneten sie eine Reduktion thrombotischer Komplikationen durch den gepaarten Einsatz von Aspirin und Heparin (Debrun GM et al., 1982). Auch Luepker und Mitarbeiter verzeichneten eine 50 prozentige Reduktion der thrombusinduzierten Zirkularisationsstörungen bei systemischer Heparinisierung im Vergleich zur nicht heparinisierten Kontrollgruppe (Luepker RV et al., 1975), so dass mittlerweile eine systemische Heparinisierung bei humanmedizinischen Kathetereingriffen bereits seit Jahrzehnten Standard ist.

Für die Veterinärmedizin liegen wesentlich weniger Daten vor.

Für den Hund ist bekannt, dass das Einbringen von Kathetern über einen längeren Zeitraum (also mehrere Tage, wie z.B. bei einem zentralen Venenkatheter) mit einem erhöhten Risiko für eine pulmonale Thrombembolie einhergeht (LaRue MJ, 1990).

Für die Katheterintervention des Schweines konnten Leuser und Mitarbeiter nach Punktion des Gefäßes und Einbringen der Schleusen eine gesteigerte Thrombozytenaktivierung feststellen.

Zwar wird der Hund nach wie vor als Modelltier für die humanmedizinische Thromboseforschung eingesetzt (Haines DE et al., 2012 und Smith RS et al., 2012),

trotzdem liegen unzureichende Informationen über die Folgen einer kurzfristigen kardialen Katheterisierung auf die Blutgerinnung des Hundes vor.

Diese sollen im Folgenden anhand der in dieser Arbeit erhobenen Daten diskutiert werden.

4.1 Primäre Hämostase

Im Verlauf der Katheterintervention sanken die Thrombozyten- und Leukozytenzahl kontinuierlich signifikant ($p < 0,0001$) in beiden Gruppen ab. Dieser gesteigerte Verbrauch von Thrombozyten (und Gerinnungsfaktoren) kann unmittelbar mit dem Einbringen der Katheter in das Gefäßsystem zusammenhängen. So beschreiben Courtney und Forbes bei der Hämodialyse die Bildung einer Proteinschicht (unter anderem aus Albumin und Fibrinogen) an dem eingesetzten Katheter, an der es in der Folge zur Thrombozytenaktivierung und deren Verbrauch kommt. Die von den aktivierten Thrombozyten freigesetzten Substanzen wiederum aktivieren die intrinsische Gerinnung und es kommt zur Entstehung eines Fibrin-Monolayers, was eine weitere Thrombozytenaktivierung bedingt und somit insgesamt zu einem Verbrauch von Thrombozyten und Gerinnungsfaktoren führt (Courtney JM et al., 1994). Die Autoren beschreiben weiterhin eine folgende Anheftung von Leukozyten an der Kathetermembran, die sich in deren schnellem Verbrauch und damit einhergehendem Abfall der Zellzahl widerspiegelt. Zu einer Erholung käme es nach etwa einer Stunde, nach Ausschüttung der Leukozyten aus dem Speicherpool in Milz und Knochenmark (Courtney JM et al., 1994). Auch bei den hier untersuchten Hunden konnte während des Kathetereingriffes ein im zeitlichen Verlauf signifikanter Abfall der Leukozyten in beiden Gruppen teils unter den Referenzbereich, nachvollzogen werden, mit Tiefpunkt nach erfolgter Intervention. Um einer Absorption und Aggregation von Thrombozyten an den Kathetern selbst direkt vorzubeugen diskutieren Courtney und Forbes den Einsatz von Thrombozytenaggregationshemmern wie Aspirin (Courtney JM et al., 1994).

Ein zeitlich signifikanter Anstieg der Thrombozytenaggregate und somit ein Hinweis auf eine Thrombozytenaktivierung ließ sich nur in der Gruppe der PS unmittelbar nach Ballondilatation nachweisen. Eine potentielle Erklärung hierfür könnte in einer Gefäßwandschädigung infolge Ballondilatation sein. Passend dazu konnten Saunders und Mitarbeiter nachweisen, dass aufgrund der ausgeprägten Myokardschädigung die Troponin I-Werte bei Hunden mit Pulmonalstenose nach Ballondilatation im Vergleich zu den Basalwerten signifikant erhöht waren (Saunders AB et al., 2009). Und auch aus der Humanmedizin ist bekannt, dass die Entstehung arterieller Thrombosen durch Ballondilatationen forciert wird. So zeigten Wessel und Kollegen in einer Datenauswertung bei Kindern mit Femoralarterienthrombose einen Anteil von Patienten mit erfolgter Ballondilatation von 39% (Wessel DJ et al., 1986). Zudem ist aus der humanmedizinischen Thrombose-Forschung das sogenannte „ballon catheter injury model“ bekannt. Es wird insbesondere an größeren Versuchstieren zur artifiziellen Gefäßwandschädigung angewandt und dient der Erforschung der Thrombenbildung infolge Ruptur arteriosklerotischer Plaques (Owens AP et al., 2010).

Bereits in den späten 70er Jahren fand man bei humanen Patienten mit kongestivem Herzfehler signifikant höhere Zahlen an zirkulierenden Thrombozytenaggregaten als bei Gesunden sowie eine Erhöhung verschiedener Marker der Thrombozytenaktivierung, wie β -Thromboglobulin, Plättchenfaktor 4 und P-Selektin (Mehta J et al., 1979). Hinter der gesteigerten Thrombozytenaktivierung wird eine multifaktorielle Genese angenommen, wobei eine Rolle der erhöhten intrazytoplasmatischen Kalziumkonzentration zugesprochen wird (Negrescu EV et al., 1990). Eine weitere Theorie vermutet eine vermehrte sympathoadrenerge Aktivierung und damit verbundene Katecholaminausschüttung (Anfossi G et al., 1996) bzw. eine infolge reduzierter Leber- bzw. Nierendurchblutung verminderte Clearance von Thrombozyten-aktivierenden Substanzen (Malanin AI et al., 2003).

Insbesondere bei Patienten mit PDA ist eine Hämolyse-Komponente aufgrund einer Schädigung der Erythrozyten durch das implantierte Device (Amplatz Canine Duct Occluder® (ACDO)) möglich. Für die Humanmedizin ist das Auftreten einer

Hämolyse, insbesondere bei der extrakorporalen Zirkularisation, als einer der größten Risikofaktoren zur Entwicklung von Thrombembolien bekannt. Infolge Zerstörung der Erythrozyten kommt es zur ADP-Freisetzung. ADP wiederum ist ein potenter Thrombozytenaktivator (Dalen JE et al., 1986). Zwar konnte bei keinem der hier untersuchten Hunde mit PDA makroskopisch eine Hämolyse detektiert werden, was deren Bestehen jedoch nicht ausschließt.

Die Thrombozytenaktivierungsindizes MPC und MPV zeigten in beiden Gruppen signifikante Veränderungen; besonders ausgeprägt zu Zeitpunkt 3, also unmittelbar nach Intervention. Das Absinken des MPC weist auf eine Thrombozyten-Degranulation hin, während die Zunahme des MPV mit einem vollzogenen Shape change bzw. einer Zusammenlagerung weniger Thrombozyten assoziiert sein kann. Diese Daten können für eine Thrombozytenaktivierung sprechen (Moritz A et al., 2010). Diese Aktivierung könnte zum einen in einer endothelialen Schädigung im Rahmen des Einbringens des ACDOs bzw. der Ballondilatation begründet sein; zum anderen entsteht infolge Ballondilatation eine kurzfristige Stase der Zirkularisation, die ebenfalls eine Thrombozytenaktivierung bedingen könnte. In der Humanmedizin wird MPV derzeit als neuer, unabhängiger kardiovaskulärer Risikofaktor gehandelt (Blaha M et al., 2013).

Generell gilt der Einsatz zentraler Venenkatheter in der Humanmedizin bei hospitalisierten Patienten als einer der Hauptrisikofaktoren zur Entstehung einer venösen Thrombembolie (Woller SC et al., 2011). Linnemann und Lindhoff-Last beschreiben in einem Review von 2012 Faktoren, die mit einem erhöhten Risiko der Thrombembolie beim Menschen einhergehen und die auch potentiell bei der Herzkatheterintervention des Hundes anzutreffen sind. Mehrfache Punktionsversuche führen zu einer Endothelschädigung an der Punktionsstelle, die für Katheter-assoziierte Thrombosen prädisponierend sei (Eisen LA et al. 2006 und Lee AY et al., 2006). Auch die Länge des Katheters spielt eine Rolle. Je länger die zu überwindende Gefäßdistanz desto größer sei das Thromboserisiko (Linnemann B et al., 2012). Die Länge der während des Eingriffes verwendeten Katheter variierte; zu bedenken ist, dass eine Strecke vom Femoralgefäß zum Herzen zu überbrücken ist.

Auch eine vorangegangene Katheterisierung begünstigt infolge Endothelschädigung eine vermehrte Gerinnungsneigung und somit die Entstehung Katheter-assoziiierter Thrombosen (Eisen LA et al., 2006 und Lee AY et al., 2006). Bei der Herzkatheterintervention ist ein mehrfacher Wechsel verschiedener Kathetertypen notwendig. Zudem wird über einen Zeitraum von bis zu mehreren Stunden katheterisiert. In unserer Studie lag die mediane Dauer der Intervention (wobei die Zeit von Narkoseeinleitung bis Ausleitung berechnet wurde) beider Gruppen gemeinsam bei 165 Minuten, wobei die Patienten mit PDA mit 179 Minuten im Vergleich zur Gruppe der Pulmonalstenosen mit einem Median von 140 Minuten einen längeren Zeitraum verzeichneten. Durchschnittliche Werte zur Dauer der pädiatrischen Katheterintervention betragen laut Liebhardt 106 +/- 63 Minuten für PDA-Patienten und 155 +/- 74 Minuten für Kinder mit PS (Liebhardt MW, 2007).

In einer Studie von Luciani und Mitarbeitern konnte auch ein Einfluss des Faktors Zeit auf die Thrombosierung zentraler Venenkatheter gefunden werden, allerdings untersuchte die Studie humane Langzeitpatienten mit einer Katheterverweildauer über mehrere Wochen bis Monate (Luciani A et al., 2001). Doch auch in der Veterinärmedizin konnte eine zunehmende Thrombogenität mit der Dauer des Verbleibs des Katheters für Katzen unter Hämodialyse bestätigt werden (Langstone CE et al, 1997).

4.2 Vollblutimpedanzaggregometrie

Es konnten in der Vollblutimpedanzaggregometrie, wie zu erwarten, signifikante Unterschiede bezogen auf die Verdünnung des Aktivators Kollagen detektiert werden. Dieser Effekt ist bekannt und wurde bereits in der Human- (Ozaki Y et al., 1998, Budde U, 2002) und Veterinärmedizin unter anderem für die Spezies Hund (Kurata M et al., 1995, Jancinova V et al., 1996) beschrieben.

Die ausgeprägtesten Messunterschiede ergaben sich für die Konzentration 0,8 µg/ml. Diese Ergebnisse widersprechen denen von Kalbantner und Kollegen, die als optimale Kollagenkonzentration zur Thrombozytenfunktionsdiagnostik beim Hund 5µg/ml angeben. Allerdings strebten die Autoren insbesondere möglichst geringe

interindividuelle Unterschiede an, die sie wiederum mittels Kollagen-Konzentrationen zwischen 3 und 5 µg/ml nachweisen konnten (Kalbantner K, Baumgarten A, Mischke R, et al., 2009). Muriithi und Mitarbeiter hingegen postulierten für die Humanmedizin Kollagenkonzentrationen von 2 µg/ml als zu hoch. Dies hätte zur Folge, dass subtile Veränderungen der Thrombozytenfunktion übersehen würden; die Autoren sehen Konzentrationen von 0,6 µg Kollagen/ml für Studien mit Vollblut als optimale Verdünnung an (Muriithi et al., 2002 (b)) an.

Zu sehen ist zunächst ein leichter Anstieg der Geschwindigkeit der Aggregatbildung (Velocity) zu Zeitpunkt 2, also nach Legen der venösen Schleuse. Eine potentielle Erklärung für dieses Phänomen kann eine Aktivierung der Thrombozyten infolge Einbringen des Katheters in das Gefäßsystem sein. Die erhobenen Daten decken sich mit den Ergebnissen der Arbeit von Leuser und Kollegen. Hier zeigte die Untersuchung der Thrombozytenfunktion von Schweinen mittels PFA-100 während einer Katheterintervention ebenfalls eine deutlich beschleunigte Aggregationsgeschwindigkeit nach Legen der venösen Schleusen (Leuser C, et al., 2012). Die Bedeutung der Thrombozyten insbesondere für die Entstehung arterieller Thromben ist bekannt und wird in der Humanmedizin zunehmend zur Thromboseforschung herangezogen. Hayes und Mitarbeiter zeigten für die Humanmedizin eine direkte Korrelation zwischen der intraoperativen Entstehung von Mikroemboli und der Erregbarkeit der Thrombozyten auf den Aktivator ADP. Folglich hatten Patienten mit intraoperativ verstärkter Thrombozytenaggregation ein höheres thromboembolisches Risiko (Hayes PD, et al., 2003). Auch Poston und Kollegen zeigten, dass eine mittels Vollblutaggregometrie belegte Hyperaggregabilität der Thrombozyten bei Patienten mit Bypass-Operation mit dem vermehrten Auftreten thrombotischer Komplikationen assoziiert ist (Poston R et al., 2005).

Zu Zeitpunkt 3, also nach erfolgter Intervention, konnte ein Abfall der Velocity nachgewiesen werden, der in einem Thrombozytenverbrauch im Zuge des Kathetereingriffes begründet sein kann. Weiterhin ist mit zunehmender Dauer des Eingriffes eine steigende Beeinflussung durch die verwendete Heparinspüllösung (5000 IE Heparin-Natrium/Liter) anzunehmen. So ist beschrieben, dass Heparinfragmente an die Thrombozyten binden, wodurch die Kollagen-induzierte

Aggregation gehemmt wird (Boldt J et al., 1994). Auch Muriithi et al. konnten eine verminderte Thrombozytenaggregation nach in vivo Heparinisierung ab einer Dosierung von ≥ 30 I.E. Heparin/kg nachweisen (Muriithi EW et al., 2002 (a)).

Schlussendlich zeigte sich eine Erholung der Effekte innerhalb von 30 Minuten nach erfolgter Dilatation der PS bzw. Implantation des ACDO.

4.3 Sekundäre Hämostase, natürliche Inhibitoren und Fibrinolyse

Die von uns untersuchten Hunde zeigten innerhalb des Kathetereingriffes einen signifikanten Abfall von Faktor VIII, Protein C und Protein S, Antithrombin und Fibrinogen sowie einen signifikanten Anstieg der D-Dimere, der PT und der aPTT.

Diese Ergebnisse sprechen für eine verminderte Aktivität der plasmatischen Gerinnung und der natürlichen Inhibitoren der Gerinnung und geben Hinweise auf eine gesteigerte Fibrinolyse.

Diese Resultate decken sich weitgehend mit denen der Arbeitsgruppe um Hoerl. Diese untersuchte die Auswirkungen der kardialen Katheterisierung auf verschiedene Parameter der Hämostase von Kindern im Vergleich zu Erwachsenen. Sie konnten unmittelbar nach dem Eingriff eine signifikante Reduktion von FII, FV, FVII, und FX und Fibrinogen sowie eine signifikante Verlängerung der Gerinnungszeiten nachweisen. Protein C und Protein S wurden in dieser Studie nicht berücksichtigt.

Die Veränderungen waren in der Gruppe der Kinder (Alter 1-6 Jahre) signifikant ausgeprägter als bei den älteren Probanden. Die Autoren räumen ein, dass eine gewisse Beeinflussung der Werte durch das während des Eingriffes verabreichte Heparin in Erwägung gezogen werden muss, gehen aber des Weiteren von einer Aktivierung der Gerinnung und in der Folge von einem Verbrauch der entsprechenden Faktoren aus (Hoerl et al., 2011). Auch unsere Ergebnisse bei Hunden sprechen für einen Verbrauch pro- und antikoagulatorischer Komponenten während der Herzkatheterintervention. Untermuert wird diese Theorie durch den

milden, aber signifikanten Anstieg der D-Dimere, die hinweisend sind auf die Spaltung bereits quervernetzten Fibrins.

Weiterhin schlussfolgern Hoerl und Kollegen aus ihren Daten, dass Kinder einem größeren Thrombembolie- und Blutungsrisiko infolge Herzkathetereingriff unterliegen als Erwachsene (Hoerl et al., 2011). Da sich unsere Studienpopulation ebenfalls überwiegend aus jungen Tieren (Altersmedian bei 14 bzw. 16 Monaten) zusammensetzte, ist auch hier bezüglich des Schweregrades der Veränderungen eine altersbedingte Beeinflussung denkbar. Unseres Wissens bestehen aktuell keine vergleichbaren tiermedizinischen Daten zu den Auswirkungen der Katheterintervention auf die Hämostase bei älteren Hunden.

Protein C, als Inhibitor der Gerinnung und dessen Cofaktor Protein S sanken in beiden Gruppen signifikant ab, wobei für Protein S deutlich niedrigere Werte in der Gruppe der PS zu verzeichnen waren. Bemerkenswert ist weiterhin, dass die Aktivitäten von Protein C für beide Gruppen deutlich unterhalb des Referenzbereiches lagen. Eine potentielle Erklärung wäre ein ständiger Verbrauch der Inhibitoren im Rahmen der dauerhaft vermehrten Scherkräfte.

Tarnow et al. fanden in ihrer Studie an Hunden mit chronischem kongestiven Herzversagen signifikant niedrigere Konzentrationen an Protein C im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe (Tarnow I et al., 2007). In der Humanmedizin wurden bei Patienten mit Arteriosklerose erhöhte Konzentrationen an Fibrinogen sowie verminderte Protein-C-Spiegel im Zuge einer gesteigerten Thrombinaktivierung nachgewiesen (Welters I et al., 1998).

Ein signifikantes Absinken der Protein C-Level, wie im zeitlichen Verlauf der Katheterintervention zu beobachten, konnten auch Taneja und Kollegen in ihrer humanmedizinischen Studie an Patienten mit koronarer Bypass Chirurgie in der Gruppe ohne kardiopulmonalen Bypass feststellen (Taneja R et al., 2013). Untersucht wurden hier zu verschiedenen Zeitpunkten Blutproben von 20 Menschen in Allgemeinanästhesie, die sich einer elektiven koronaren Bypass-Operation unterzogen und unter Heparin-Einfluss (300-400 U/kg unfraktioniertes Heparin) standen. Ein signifikantes Absinken der Protein C Level war bei den Menschen, die

keinen kardiopulmonalen Bypass erhielten ($n = 10$) zum Zeitpunkt nach Fertigstellung der distalen Anastomose, im Vergleich zu den Werten vor Einleitung der Anästhesie nachzuvollziehen ($p < 0,05$).

4.4 Globaltests der Gerinnung TEG

Der R-Wert und der K-Wert zeigten im zeitlichen Verlauf des Kathetereingriffes in der PDA Gruppe einen hochsignifikanten Anstieg mit Maximum zu Zeitpunkt 4. Die Werte der PS Probanden blieben über den gesamten Eingriff weitgehend konstant.

Auch für den Winkel α zeigten die Probanden der PS-Gruppe konstante Werte während in der PDA-Gruppe ein signifikantes Absinken zu Zeitpunkt 4 festgestellt werden konnte. Es ergaben sich während der Intervention keinerlei Signifikanzen für den G-Wert. Der MA-Wert zeigte ein geringes aber statistisch signifikantes Absinken zu Zeitpunkt 4.

Es gibt zahlreiche publizierte Daten zur TEG-Untersuchung bei Hunden, nach Wissen der Autorin allerdings keine Veröffentlichungen bezüglich einer Katheterintervention.

Die bereits zitierte Studie von Hoerl und Mitarbeitern aus 2011 zeigte bei Kindern im Alter von 1-6 Jahren nach kardialer Katheterisierung ebenfalls ein signifikantes Absinken der Maximalamplitude im Thrombelastogramm. Die Arbeitsgruppe schlussfolgert aus ihren Ergebnissen insgesamt ein erhöhtes Risiko für thrombotische oder blutungsbedingte Komplikationen für Kinder.

Ryan und Mitarbeiter untersuchten 2012 den Effekt von arteriellen und zentralvenösen Kathetern bei Schweinen bzw. Menschen auf die Parameter des Kaolin-aktivierten Thrombelastogrammes. Im Gegensatz zu unseren Daten zeigten sie eine signifikante Reduktion der Gerinnungselbildungszeiten (Abfall der R- und K-Werte) sowie eine beschleunigte Fibrin-Quervernetzung (Zunahme des Winkels α). Sie schlossen somit, dass es infolge Katheterisierung zu einem prokoagulablen Status bei Mensch und Schwein kommt (Ryan ML et al., 2012). Verglichen mit unseren Daten ist kritisch anzumerken, dass Ryan und Kollegen zwar ebenfalls

anästhesierte Tiere untersuchten, diese allerdings weder eine Infusionstherapie noch Medikamente oder eine Operation bzw. Intervention erhielten. Dies schränkt die Vergleichbarkeit deutlich ein.

4.5 Einflussfaktoren

Eine Beeinflussung der erhobenen Daten durch diverse, nicht unmittelbar Katheter-assoziierte Faktoren ist gegeben, ebenso Gegenstand dieser Arbeit und soll im Folgenden diskutiert werden. Als solche Einflussgrößen sind aufzuführen:

- Körpertemperatur
- Hämodilution
- Heparin
- weitere Medikamente

4.5.1 Körpertemperatur

Wir verzeichneten im zeitlichen Verlauf der Intervention eine signifikante Reduktion der Körpertemperatur mit Minimum zu Zeitpunkt 4 in beiden Gruppen. Ebenso kam es zu einem signifikanten Absinken der Thrombozytenzahl mit niedrigstem Wert zu Zeitpunkt 3 in beiden Gruppen.

Es ist bekannt, dass eine Hypothermie die Hämostase beeinflussen kann.

„Eine schwere Hypothermie beeinflusst nachteilig die Thrombozytenmorphologie und kann eine milde transiente Thrombopenie hervorrufen, da es zu einer Thrombozytenspeicherung in der Milz kommt“ (Russle KE, 2010). Eine aktuelle Arbeit von Taggart et al. befasst sich mit dem Einfluss der Temperatur auf die Parameter der Thrombelastographie bei Hunden. Deren Daten zeigen einen signifikanten Anstieg des K-Wertes sowie einen signifikanten Abfall des α -Wertes ab Temperaturen von $\leq 30^{\circ}\text{C}$. Bei Temperaturen über 30°C , wie sie in unseren Ergebnissen durchgehend zu verzeichnen sind, zeigten sich keinerlei signifikante Veränderungen bezüglich MA- und R-Wert (Taggart R et al., 2012).

4.5.2 Hämodilution

Es kam während des Eingriffes zu einem deutlichen Verbrauch pro- und antikoagulatorischer Komponenten.

An dieser Stelle kann eine gewisse Hämodilutionskomponente nicht ausgeschlossen werden, aufgrund der in der Regel jedoch äußerst beschränkten Blutverluste und des eher restriktiven Infusionsmanagements ist aber von einer eher geringen Beeinflussung diesbezüglich auszugehen. Dafür spricht auch, dass der Hämatokrit zwar in beiden Gruppen absinkt, es aber andere Parameter (z.B. FVIII) mit deutlichen Unterschieden innerhalb der Gruppen gibt. Die Erythrozyten spielen eine Rolle im physiologischen Gerinnungsprozess, indem sie die Thrombozyten an die Gefäßwand pressen und die Scherkräfte, die zu deren Aktivierung führen verstärken (Uijttewaal Ws et al., 1993). Ihnen kommt aber auch ein aktiver Part zu; in vitro wurde eine Stimulierung der Thrombinbildung und der Thrombozytenfunktion selbst nachgewiesen (Horn MK et al., 2006). Zudem wird eine Erythrozytose/Polyzythämie als Risikofaktor zur Entstehung einer Thrombose gewertet (Spivak JL, 2002) und es ist bekannt, dass die Transfusion von Erythrozyten bei anämischen Patienten zu einer Reduktion der Blutungszeiten führt (Blajchman MA et al., 1994).

In diesem Zusammenhang untersuchten Roeloffzen und Mitarbeiter die Auswirkungen einer Anämie auf verschiedene Parameter der Hämostase und fanden eine signifikant negative Korrelation zwischen Hämoglobin, der PT sowie den TEG-Parametern MA und R-Zeit, wobei diese Veränderungen ausgeprägter in einer Gruppe mit Hämoglobinwerten <10g/dL waren (Roeloffzen WWH et al., 2010). Auch unsere Ergebnisse zeigten im zeitlichen Verlauf des Kathetereingriffes einen signifikanten Abfall des Hämatokrit-Wertes sowie einen Anstieg der PT. Allerdings wurde nur bei 4 von insgesamt 80 bestimmten HTC-Werten ein Wert unterhalb von 30% (genau: 29%) detektiert, so dass dominierend nicht von kritischen Hämoglobinkonzentrationen unter 10g/dL ($\text{Hb in g/dL} = \text{HTC in \%} \times 0,34$) auszugehen ist. Zudem sind die Ergebnisse beider Studien nur indirekt vergleichbar, da Roeloffzen und Kollegen Vollblutproben ohne Aktivator mittels TEG untersuchten, wohingegen unsere Untersuchungen anhand von Kaolin-aktiviertem rekalkifiziertem Vollblut durchgeführt wurden.

Im Gegensatz zu diesen Daten wiesen Iselin und Mitarbeiter in vitro bei einem Abfall des Hämatokrit-Wertes von 40% auf 10% eine Verkürzung der R- und K-Zeit sowie einen Anstieg von MA, G-Wert und des Winkels α nach, was wiederum für eine beschleunigte Blutgerinnung bei niedrigem Hämatokrit spricht (Iselin BM et al., 2001). Eine weitere Studie zeigte ebenfalls einen eher prokoagulatorischen Status im Sinne einer verkürzten R- und K-Zeit sowie eines erweiterten Winkels α in Folge milder Hämodilution mittels physiologischer Kochsalzlösung auf Hämatokritwerte von 20-30% (Ng KF, Lam CC, Chan LC, 2001).

Clancey und Mitarbeiter konnten hingegen signifikant verlängerte Verschlusszeiten mittels PFA-100 bei HTC-Werten von 33%, 30% und 27% im Vergleich zur Kontrollgruppe mit HTC-Werten bei 39-45% nachweisen (Clancey et al., 2009).

4.5.3 Heparin

Aufgrund der durchgeführten TEG-Doppelmessung mit und ohne Heparinase zu Zeitpunkt 4 lässt sich der Heparineffekt von dem des Kathetereingriffes unterscheiden. Der signifikante Anstieg von R- und K-Wert wird durch die Heparinasecup-Messung relativiert; ebenso das Absinken von Winkel α .

Pittmann und Mitarbeiter untersuchten in ihrer Studie aus 2012 den Effekt von unfraktioniertem Heparin (subkutane Gabe von 200U/kg bei Hunden) auf TEG-Parameter. Sie fanden nach 3 Stunden bei allen der 6 Hunde signifikante Veränderungen im Sinne einer Verlängerung der R-Zeit sowie einer Verminderung des Winkels α und der Maximalamplitude MA. Zum gleichen Zeitpunkt lag die anti-Faktor Xa- Aktivität für diese Tiere jedoch innerhalb des Referenzbereiches. Die Autoren schlussfolgerten, dass TEG sei zu sensitiv bezüglich des Monitorings einer Therapie mit unfraktioniertem Heparin (Pittmann JR et al., 2010). Die von Pittmann erhobenen Daten decken sich mit den in dieser Arbeit erhobenen Daten.

Die fehlenden Signifikanzen des G-Wertes als Parameter der Gesamtgerinnungsaktivität lassen sich über dessen starke Abhängigkeit (zu etwa 80%) von der Thrombozytenfunktion erklären.

Laga und Mitarbeiter (2005) konnten eine verminderte Aggregationsneigung (mittels Aggregometrie) als Folge einer Heparinisierung beobachten. Auch Muriithi et al. stellten mittels Impedanzaggregometrie fest, dass eine *in vivo* Heparinisierung im Gegensatz zur Zugabe von Heparin *in vitro*, die Thrombozytenaggregation hemmt. Den Effekt führen die Autoren auf die heparininduzierte Freisetzung verschiedener Lipasen aus dem Endothel zurück, die eine thrombozytäre Dysfunktion vermitteln sollen. Diese ließe sich auch nach einer *in vitro* Behandlung mit Heparinase nicht aufheben (Muriithi et al., 2002 (a)).

Die exakte Dosis der Heparinmenge pro Hund ist aufgrund der nur per Spüllösung (5000 IE Natrium Heparin/Liter) verwendeten Menge nicht zu ermitteln.

4.5.4 Weitere Medikamente

Die Medikation der Probanden kann einen Einfluss auf die erhobenen Daten haben. So ist, wie bereits zuvor ausführlich ausgeführt, für Furosemid, ACE-Hemmer, Pimobendan, β -Laktam-Antibiotika und Anästhetika eine mehr oder weniger ausgeprägte antiaggregatorische Wirkung auf die Thrombozyten bekannt, so dass der hier detektierte prokoagulatorische Effekt unterschätzt sein könnte (Malinin AI et al., 2003).

Im Gegensatz dazu berichtet ein Großteil der Literatur von einem prothrombotischen Effekt nichtionischer, monomerer, iodhaltiger Röntgenkontrastmittel, wie dem in unserem Hause verwendeten Xenetix® 300. So zeigten zahlreiche *in vitro* Studien für nichtionische Kontrastmittel eine gesteigerte Thrombusformation (Hwang MH, et al., 1989), Thrombinbildung (Kopko PM et al., 1990), Thrombozytenaggregation (Grabowski EF, 1990) und Thrombin-Antithrombin-Komplex-Bildung (Fareed J, et al., 1990). Esplugas und Mitarbeiter fanden eine bis zu fünffach gesteigerte Inzidenz thrombotischer Komplikationen bei der Verwendung von nichtionischen im Vergleich zu ionischen Kontrastmitteln (Esplugas E et al., 1989). Auch für den Hund wurde in einer experimentellen Arbeit mit artifizieller arterieller Gefäßverletzung ein beschleunigter thrombotischer Gefäßverschluss bei Anwendung nichtionischer Kontrastmittel detektiert (Grines C et al., 1989). Kilinc und Mitarbeiter untersuchten

den Effekt des nichtionischen Kontrastmittels Iopamidol bei 30 Patienten mit Koronarangiographie oder kardialer Katheterisierung und fanden neben einem signifikanten Abfall der Hämatologieparameter Hämoglobin, Leukozyten und Thrombozyten eine signifikante Verlängerung von PT und aPTT, wie auch in unserer Studie nachzuweisen. Diese Effekte interpretieren die Autoren, neben einer gewissen Hämodilutionskomponente, als Verbrauch von Thrombozyten, Leukozyten und Gerinnungsfaktoren im Rahmen einer Gerinnungsbildung. Sie relativieren die Ergebnisse aber, indem sie von einem Ausgleich im Rahmen der Hämostase ausgehen und schlussfolgern einen sicheren Einsatz nichtionischer Kontrastmittel bei Patienten mit Herzinfarkt. Die Protein C, Protein S und AT III-Konzentrationen veränderten sich im Gegensatz zu den von uns erhobenen Daten in deren Studie nicht signifikant (Kilinc Y et al., 2003).

4.6 Limitationen

Als Limitationen der Studie sind verschiedene Punkte anzuführen. Zunächst besteht mit insgesamt 20 Patienten eine relativ kleine Fallzahl, so dass aufgrund der eingeschränkten statistischen Aussagekraft, statistische Signifikanzen übersehen worden sein könnten. Zudem ist das Fehlen einer Kontrollgruppe kritisch anzumerken. Als adäquate Kontrollgruppe hätte der gleiche Eingriff an einer Alters- und Rasse-entsprechenden gesunden Hundepopulation durchgeführt werden müssen. Aus tierschutzrechtlichen Gründen ist ein solches Unterfangen nicht zu rechtfertigen. Alternativ käme eine Beprobung von Tieren mit gleicher Erkrankung in Allgemeinanästhesie in Frage, um die katheterspezifischen Veränderungen von denen einer Narkose abzugrenzen. Diese Option kam deshalb nicht in Betracht, da aufgrund des hohen Narkoserisikos Hunde mit PDA oder PS nicht routinemäßig ohne vorherige therapeutische Katheterintervention anästhesiert werden. Gleiches gilt für Hunde mit Herzerkrankung anderer Genese ohne medikamentelle Vorbehandlung. Zudem fungieren die Tiere aufgrund der Mehrfachmessungen während der ausgewählten Zeiträume als eigene Kontrollgruppe, zumal insbesondere die Veränderung der Parameter während der Intervention beurteilt werden sollten. Eine gewisse Abweichung in der Vorbehandlung der Patienten (siehe

Material und Methoden) ist bei einer klinischen Studie, in der erkrankte Tiere untersucht werden, nicht zu vermeiden. Die jeweiligen potentiellen Auswirkungen auf die Ergebnisse wurden ausführlich diskutiert.

4.7 Schlussfolgerung

Basierend auf den Resultaten dieser Studie, kann gefolgert werden, dass es aufgrund therapeutischer Katheterintervention zur Thrombozytenaktivierung sowie zum Verbrauch pro- und antikoagulatorischer Faktoren kommt.

Trotz der statistischen Signifikanzen bleibt eine klinische Relevanz fraglich, zumal sich die meisten Parameter innerhalb bzw. nahe des Referenzbereiches befanden und klinisch keine Thrombose- oder Blutungs-assoziierten Komplikationen bei den Patienten beobachtet wurden.

Aufgrund der erhobenen Daten ist ein, wie in der Humanmedizin standardisierter routinemäßiger Einsatz von zusätzlichen Antikoagulantien, wie Thrombozytenfunktionshemmern, im Herzkathetereingriff des Hundes nicht zu empfehlen.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Katheterinterventionen sind mit einem Thromboserisiko assoziiert. Ziel dieser prospektiven Studie war die Evaluation der primären, sekundären und tertiären Hämostase sowie der natürlichen Antikoagulantien bei Hunden mit persistierendem Ductus Arteriosus Botalli (PDA) bzw. Pulmonalstenose (PS) während der Katheterintervention.

Eingeschlossen wurden Hunde >10 kg Körpergewicht, die zwischen Juni 2010 und November 2011 mit PDA (n=10) oder PS (n=10) zur interventionellen Therapie vorgestellt wurden. Die Blutprobenentnahmen erfolgten 1) nach Narkoseeinleitung, 2) nach Legen der venösen Schleuse, 3) nach Implantation des ACDO bzw. nach Ballondilatation und 4) 30 Minuten danach. Die hämatologische Untersuchung (ADVIA 2120™, Siemens Healthcare Diagnostics) schloss die Thrombozytenaktivierungsindizes (MPC = Mean Platelet Component, MPV = Mean Platelet Volume, Large Platelets und Platelet Clumps) ein. Die Thrombozytenfunktion wurde mittels Impedanz-Vollblut-Aggregometrie (Multiplate, Roche Diagnostik GmbH) mit dem Induktor Kollagen (Konzentrationen 3,2; 1,6; 0,8; 0,4 µg/ml) evaluiert. Die Messungen der Prothrombinzeit (PT), aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT), Fibrinogen, Faktor VIII (FVIII), Antithrombin (AT), Protein C, Protein S und D-Dimeren erfolgten am STA Compact (Roche Diagnostik GmbH). Zusätzlich wurde eine Kaolin-aktivierte Thrombelastografie (TEG) durchgeführt.

Der Hämatokrit sank während des Eingriffes signifikant ($p < 0,0001$) ohne Gruppenunterschied ($p = 0,2093$). Beide Gruppen zeigten einen signifikanten ($p < 0,0001$) Abfall (Minimum Zeitpunkt 3 bzw. 4) von PLT, MPC, AT und Thrombozytenfunktion (Velocity, $p < 0,0001$) sowie von FVIII, Protein S und Fibrinogen. Die 3 letztgenannten Parameter waren signifikant niedriger bei Hunden mit PS ($p = 0,0285$ bzw. $0,0014$ bzw. $0,0447$). In beiden Gruppen war ein signifikanter Anstieg von PT, aPTT, MPV ($p < 0,0001$) und D-Dimeren ($p = 0,0296$) feststellbar. Ein zeitlich signifikanter Anstieg der PLT-Clumps ($p = 0,0097$) ließ sich nur in der Gruppe der PS nachweisen (Maximum zu Zeitpunkt 3). Der TEG-G-Wert (Gesamtgerinnungsaktivität) zeigte keine signifikanten Veränderungen.

Die Katheterintervention führte in beiden Gruppen zu einer Thrombozytenaktivierung zu Zeitpunkt 3, einer signifikanten Verminderung pro- und antikoagulatorischer Komponenten und zu Hinweisen auf Fibrinolyse evtl. infolge vorangegangener Gerinnungsaktivierung. Für die Parameter PLT-Clumps, Protein S, FVIII war dieser Effekt ausgeprägter in der PS Gruppe.

Trotz der festgestellten statistischen Signifikanzen bleibt eine klinische Relevanz fraglich, zumal sich die meisten Parameter innerhalb bzw. nahe des Referenzbereiches befanden. Klinisch wurden weder Thrombose- noch Blutungs-assoziierte Komplikationen bei den Patienten beobachtet. Aufgrund der erhobenen Daten ist der routinemäßige Einsatz von Antikoagulantien, wie z.B. Thrombozytenfunktionshemmer im Herzkathetereingriff des Hundes nicht notwendig.

6 SUMMARY

Catheter interventions are associated with a risk of thrombosis. The aim of this prospective study was to evaluate the primary, secondary and tertiary hemostasis and the natural anticoagulants in dogs with persistent ductus arteriosus (PDA) and pulmonary stenosis (PS) while catheter intervention.

Included were dogs > 10 kg body weight presented between June 2010 and November 2011 with PDA (n = 10) or PS (n = 10) for interventional therapy. Blood sampling was performed 1) after induction of anesthesia 2) after placement of the venous introducer sheath 3) after implantation of the ACDO or after balloon dilation and 4) 30 minutes after that. The hematological examination (ADVIA 2120™, Siemens Healthcare Diagnostics) included the platelet activation indices (MPC = Mean Platelet Component, MPV = Mean Platelet Volume, Large platelets and platelet clumps). Platelet function was measured by impedance whole blood aggregometry (Multiplate, Roche Diagnostics GmbH) with the inductor collagen (concentrations 3.2, 0.4, 1.6, 0.8 ug/ml). The measurement of prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (aPTT), fibrinogen, factor VIII (FVIII), anti-thrombin (AT), protein C, protein S, and D-dimer were made on STA Compact (Roche Diagnostics GmbH). In addition, a kaolin-activated Thrombelastografie (TEG) was performed.

The hematocrit decreased significantly during the intervention ($p < 0.0001$) with no difference between groups ($p = 0.2093$). Both groups showed a significant decrease (minimum time 3, and 4, respectively, $p < 0.0001$) of PLT, MPC, AT and platelet function (Velocity, $p < 0.0001$) and of FVIII, protein S, and fibrinogen. The three latter parameters were significantly lower in dogs with PS ($p = 0.0285$ or 0.0014 or 0.0447). In both groups a significant increase in PT, aPTT, MPV ($p < 0.0001$) and D-dimers ($p = 0.0296$) was observed. A temporally significant increase in PLT Clumps ($p = 0.0097$) could be detected only in the group of PS immediately after intervention. TEG-G- value (total clotting activity) showed no significant changes.

The catheter intervention showed in both groups a platelet activation at time 3, a significant reduction in pro- and anticoagulant parameters and references to fibrinolysis possibly as a result of previous activation of coagulation. For the

parameters PLT Clumps , protein S, FVIII , this effect was more pronounced in the PS group.

Despite the established statistical significances, clinical relevance remains questionable, especially since most of the parameters were within or close to the reference range. Clinically, neither thrombosis nor bleeding-associated complications in the patients were observed. Based on the collected data, the routine use of anticoagulants, such as antiplatelet drugs seems so far not necessary in the cardiac catheter intervention of the dog.

7 LITERATURVERZEICHNIS

- Anfossi G, Trovati M. Role of catecholamines in platelet function: pathophysiological and clinical significance. *Eur J Clin Invest* 1996;26:353-70
- Ballard JO, Barnes SG, Sattler FR. Comparison of the effects of mezlocillin, carbencillin and placebo on normal hemostasis. *Antimicrob Agents Chemother* 1984;25:153
- Bateman SW, Mathews KA, Abrams-Ogg ACG, Lumsden JH, Johnstone IB, Hillers TK, Foster RA. Diagnosis of disseminated intravascular coagulation in dogs admitted to an intensive care unit. *J Am Vet Med Assoc* 1999;215:798-804
- Bauer N, Moritz A. Koagulopathien bei Hund und Katze. *Tierärztl Praxis* 2008;36(K):235-246.
- Bauer N, Er E, Moritz A. Influence of blood collection technique on platelet function and coagulation variables in dogs. *Am J Vet Res* 2011 Jan;72(1):64-72.
- Bauer N, Erlap O, Moritz A. Establishment of reference intervals for kaolin-activated TEG in dogs including an assessment of the effects of sex and anticoagulant use. *J Vet Diagn Invest* 2009;21:641-648 (a)
- Bauer N, Erlap O, Moritz A. Reference intervals and method optimization for variables reflecting hypo- and hypercoagulatory states in dogs using the STA Comopact® automated analyser. *J Vet Diagn Invest* 2009;21:803-814 (b)
- Bithell TC. Platelets and megacaryocytes, Wintrobe's Clinical Hematology, 9th edition, Lee GR, Bithell TC, Forester J, Athens JW, Lukas JN, Lea & Febiger, 1993:511-539
- Blaha M, Kostal M, Lanska M, Blaha V, Foralova I, Filip S, Kubisova M, Maly J. The decrease of mean platelet volume after extracorporeal LDL-cholesterol elimination. *Atheroscler Suppl.* 2013 Jan;14(1):77-81
- Blajchman MA, Bordin JO, Bardossy L, Heddle NM. The contribution of the haematocrit to thrombocytopenic bleeding in experimental animals. *Br J Haematol* 1994;86:347-50

- Blajchman MA, Young E, Ofosu FA. Effects of unfractionated heparin dermatan sulfate and low molecular weight heparin on vessel wall permeability in rabbits. *Ann NY Acad Sci* 1989;556:245-254
- Bodzdogan N, Madenoglu H, Dogru K, Yildiz K, Kotanoglu MS, Boyad A. Effects of isoflurane, sevoflurane, and desoflurane on platelet function: A prospective, randomized, single-blind, in vivo study. *Curr Ther Res* 2005;66(4):375-384
- Boldt J., Schindler E., Osmer C., Wittstock M., Stertmann W.A., Hempelmann G. Influence of different anticoagulation regimes on platelet function during cardiac surgery. *British Journal of Anesthesia* 1994; 73: 639-644
- Born G und R. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphat and ist reversal. *Nature* 1962;194:927-929
- Boudreaux MK. Platelet structure. *Schalm`s veterinary hematology*, sixth edition, Weiss Wardrop, Wiley- Blackwell, 2010: 561-568
- Bounameaux H, der Moerloose, Perrier A, et al. Plasma measurement of D-dimer as a diagnostic aid in suspected venous thrombembolism: An overview. *Thromb Haemost* 1994;71:1-6
- Breuhl EL, Moore G, Brooks MB, Scott-Moncrieff JC. A prospective study of unfractionated heparin therapy in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *J Am Anim Hosp Assoc* 2009;45:125-133
- Brogan WC, Hillis LD, Lange RA. Contrast agents for cardiac catheterization: Conceptions and misconceptions. *American Heart J* 1991;122,4(1):1129-1135
- Brooks MB, Catalfamo JL. Immune-mediated Thrombocytopenia, von Willebrand Disease, and Platelet Disorders, *Textbook of veterinary internal medicine*, seventh edition, Ettinger&Feldman, Saunders Elsevier, 2010;189: 772-783
- Brown CH, Natelson EA, Bradshaw MW, Alfrey CP, Williams TW. Study of the effects of ticarcillin on blood coagulation and platelet function. *Antimicrob Agents Chemother* 1975;7:652
- Brown NJ, Vaughan DE. Prothrombotic effects of angiotensin. *Adv Intern Med* 2000;45:419-29

- Bruhn HD, Schambeck CM, Hach-Wunderle V. Verarbeitung von Citratplasma. Haemostaseologie für die Praxis 1st ed, Stuttgart: Schattauer, 2007;29
- Budde U. Diagnose von Funktionsstörungen der Thrombozyten mit Hilfe der Aggregometrie. Journal of laboratory medicine 2002; 26: 564-571
- Burns MG, Kelly AB, Hornof WJ, et al. Pulmonary artery thrombosis in three dogs with hyperadrenocorticism. J Am Vet Med Assoc 1981;178(4):388-393
- Burroughs SF, Johnson GJ. β -Lactam Antibiotic-Induced Platelet Dysfunction: Evidence for irreversible Inhibition of Platelet Activation In Vitro and In Vivo After Prolonged Exposure to Penicillin. Blood 1990;75(7):1473-1480
- Cale L, Constantino R. Strategies for decreasing vascular complications in diagnostic cardiac catheterization patients. Dimens Crit Care Nurs. 2012 Jan-Feb;31(1):13-7
- Campbell, FE, Thomas, WP, Miller, SJ, et al. (2006), Immediate and late outcomes of transarterial coil occlusion of patent ductus arteriosus in dogs. J Vet Intern Med; 20:83-96
- Cardinal DC, Flower RJ. The electronic aggregometer: a novel device for assessing platelet behavior in blood. J Pharmacol Methods 1980;3(2):135-158
- Carney DH, Redin, McCroskey L, Role of high-affinity thrombin receptors in post clotting cellular effects of thrombin. Seminars in thrombosis and haemostasis, 1992;18:91-103
- Cazenave J-P, Packham MA, Guccione MA, Mustard JF. Effects of penicillin G on platelet aggregation, release, and adherence to collagen. Pro Soc Exp Biol Med 1973;142:159
- Chapman ES, Hetherington EJ, Zelmanovic D. A simple automated method for determining ex vivo platelet activation state. Blood 1996;88(2):50b
- Chen A, Teruya J. Global hemostatic testing thromboelastography: old technology, new applications. Clin Lab Med 2009;29(2):391-407
- Chopra V, Anand S, Krein SL, Chenoweth C, Saint S. Bloodstream infection, venous thrombosis, and peripherally inserted central catheters: reappraising the evidence. Am J Med, 2012;125(8):733-41

-
- Christopher MM. Hematologic complications of diabetes mellitus. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1995;25(3):625-637
 - Clancey N, Burton S, Horney B, MacKenzie A, Nicastro A, Cote E. Evaluation of platelet function in dogs with cardiac disease using the PFA-100 platelet function analyzer. *Vet Clin Pathol* 2009;38(3):299-305
 - Clancey N, Burton S, Horney B, MacKenzie A, Nicastro A, Cote E. Effects of in vitro hemodilution of canine blood on platelet function analysis using the PFA-100. *Vet Clin Pathol* 2009;1-4
 - Clowes AW, Karnovsky MJ. Suppression by heparin of smooth muscle cell proliferation in injured arteries. *Nature*.1977;265:625-626
 - Collier, A, Rumley A, Rumley AG, et al. Free radical activity and hemostatic factors in NIDDM patients with and without microalbuminuria. *Diabetes* 1992;41(8):909-913
 - Cook AK, Cowgill LD. Clinical and pathological features of protein-losing glomerular disease in the dog: a review of 137 cases (1985-1992) *J AmAnim Hosp Assoc* 1996;32(4):313-322
 - Courtney JM, Forbes CD, Thrombosis on foreign surfaces. *Br Med Bull* 1994; 50(4):966-81
 - Dalen JE, Hirsch J. American College of Chest Physicians and The National Heart, Lung, Blood Institute National Conference on Antithrombotic Therapy. *Arch Intern Med* 1986; 146:462-472
 - Davis CJ, Gurbel PA, Gattis WA, et al., Hemostatic abnormalities in patients with congestive heart failure: Diagnostic significance and clinical challenge. *Int J Cardiol* 2000;75:15-21
 - Debrun GM, Vinuela FV, Fox AJ. Aspirin and systemic heparinization in diagnostic and interventional neuroradiology. *AJR Am J Roentgenol*. 1982 July 139(1):139-142
 - de Leeuw PW, de Bos R, Van Es PN, et al. Blood platelets and angiotensin II. *J Hypertens* 1984;2(3Suppl):255-6
 - De Lorenzo F, Saba N, Kakkar VV. Blood coagulation in patients with chronic heart failure: Evidence for hypercoagulable state and potential for pharmacological intervention. *Drugs* 2003;63:565-576

- DelGiudice LA, White GA. The role of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in health and disease states. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2009;19:23-29
- Ding YA, MacIntyre DE, Kenyon CJ et al. Angiotensin II effects on platelet function, *J Hypertens* 1985;33:251-3
- Dogan IV, Ovali E, Eti Z, Yayci A, Gögüs FY. The In Vitro Effects of Isoflurane, Sevoflurane and Propofol on Platelet Aggregation. *Anesth Analg* 1999;88:432-6
- Donahue SM, Brooks M, Otto CM. Examination of hemostatic parameters to detect hypercoagulability in dogs. *J Vet Emerg Crit Care* 2011;21(4):346-355
- Dotson. Multiparameter Hematology Instruments. In: Stiene-Martin, Lotspeich-Steininger, Koepke, eds. *Clinical Hematology*. Philadelphia: Lippincott, 1998:519-551
- Dunn ME. Acquired Coagulopathies, *Textbook of veterinary internal medicine*, seventh edition, Ettinger&Feldman, Saunders Elsevier, 2010, 192: 797-801
- Dyszkiewicz-Korpanty AM, Frenkel EP, Sarode R. Approach to the assessment of platelet function: comparison between optical-based platelet-rich plasma and impedance-based whole blood platelet aggregation methods. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis* 2005;11:25-35
- Eastridge BJ, Lefor AT. Complications of indwelling venous access devices in cancer patients. *J Clin Oncol* 1995;13:233-8
- Eberst ME, Berkowitz LR. Hemostasis in renal disease: pathophysiology and management. *Am J Med* 1994;96(2):168-179
- Eisen LA, Narasimhan M, Berger JS, Mayo PH, Rosen MJ, Schneider RF. Mechanical complications of central venous catheters. *J Intensive Care Med* 2006;21:40-6
- Esmon CT, Fukudome K, Mather T, et al. Inflammation, sepsis, and coagulation. *Haematologica* 1999;84(3):154-259
- Esmon CT. Inflammation and the activated protein C anticoagulant pathway. *Semin Thromb Hemost*. 2006; 32 (Suppl 1):49-60
- Esplugas E, Cequier A, Mauri JF, Bernadesi L. Thrombogenic effect of hyperosmolar contrast media in patients undergoing coronary angioplasty.

Presented at the Congress of the Spanish Society of Cardiology, Barcelona, Spain, October 1989

- Fareed J, Walenga JM, Saravia GE, Moncada RM. Thrombogenic potential of nonionic contrast media? *Radiology* 1990;174:321-5
- Fass RJ, Copelan EA, Brandt JT, Moeschberger ML, Ashton JJ. Platelet-mediated bleeding caused by broad-spectrum penicillins. *J Infect Dis* 1987;155:1242
- Feldmann EC, Nelson RW. Canine and feline Endocrinology and Reproduktion. 3rd ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2003:215-216
- Ferri C, De Angelis C, Del Porto MA, et al. Blood platelets and angiotensin II: angiotensin II release after platelet aggregation. *J Hypertens* 1988;6(1Suppl):69-71
- Formanek G, Frech RS, Amplatz K. Arterial thrombus formation during clinical percutaneous catheterization. *Circulation* 1970 May 41(5):833-9
- Fry M, Snyder K, Tobias KM, Williamson BG, Reed GA. Protein S activity in dogs: Adaptation of a human colorimetric assay and evaluation effects of storage time and temperature. *Vet Med Intern* 2011;ID751849
- Gallieni M, Pittiruti M, Biffi R. Vascular access in oncology patients. *CA Cancer J Clin* 2008; 58:323-46
- Gasser JA, Betteridge DJ. Comparison of the Effects of Carvedilol, Propranolol, and Verapamil on in vitro Platelet Function in Healthy Volunteers. *J Cardiovasc Pharmacol* 1991;18:29-34
- Gebbink MF, Bouma B, Maas C, et al. Physiological response to protein aggregates: fibrinolysis, coagulation and inflammation (new roles for old factors). *FEBS Lett.* 2009;583:2691-2699
- Gentry PA, Burgess H, Wood D. Hemostasis. In: Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML eds. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th ed. San Diego, CA: Academic Press; 2008:287-330
- Gibbs CR, Blann AD, Watson RDS, Lip GYH. Abnormalities of Hemorheological, Endothelial, and Platelet Function in Patients With Chronic Heart Failure in Sinus Rhythm. *Circulation* 2001;103:1746-1751

- Gleeerup G, Mehlsen J, Winther K. Does Calcium Channel Blockade and β -Adrenergic Blockade Affect Platelet Function and Fibrinolysis to a Varying Degree? *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;25:87-89
- Gomi T, Ikeda T, Shibuya Y, et al. Effects of antihypertensive treatment on platelet function in essential hypertension. *Hypertens Res* 2000;23:567-72
- Gordon SG. Evidence for a tumor proteinase in blood coagulation. In: Honn KV, Sloane BF, eds. *Hemostatic Mechanisms and Metastasis*. New York: Springer:1984:72-83
- Gorski J, Flasiński J, Stonecka A, Nowak J, Petlak O, Dmochowska W, Wasilewska A. Effect of a low-osmolality nonionic contrast medium (iopromide) on blood platelet membrane structure and aggregation. *Eur Radiol* 1995;5:543-546
- Grabowski EF. Platelet adhesion/aggregation to injured vascular endothelium in flowing blood: effects of contrast media. *Invest Radiol* 1990;25:S123-4
- Green RA. Activated partial thromboplastin time in monitoring heparinized dogs. *Am J Vet Res* 2001;62(12):1887-1891
- Green RA. Pathophysiology of antithrombin III deficiency. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1988;18(1):95-104
- Greenbaum RA, Barradas MA, Mikhailidis DP, Jeremy JY, Evans TR, Dandona P. Effect of heparin and contrast medium on platelet function during routine cardiac catheterisation. *Cardiovasc Research* 1987; 21:878-885
- Grines CL, Diaz C, Mickelson J. Acute thrombosis in canine model of arterial injury: effect of ionic versus nonionic contrast media *Circulation* 1989;80:II-441
- Grose JH, Gbeassor FM, Lebel M. Differential Effects of Diuretics on Eicosanoid Biosynthesis. *Prost* 1986;24:103-109
- Hackner SG. Pulmonary thromboembolism I: etiology, pathophysiology and diagnosis. *Int Vet Emerg Crit Care Symp* 2004
- Haines DE, Stewart MT, Barka ND, Kirchhof N, Lentz LR, Reinking NM, Urban JF, Halimi F, Deneke T, Kanal E. Microembolism and catheter ablation II: effects of cerebral microemboli injection in a canine model. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2013 Feb;6(1):23-30

-
- Hale LP, Craver KT, Berrier AM, et al. Combination of fosinopril and paravastatin decreases platelet response to thrombin receptor agonist in monkeys. *Atheroscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1643-6
 - Haller H, Lüdersdorf M, Lenz T, et al. Changes in sensitivity to angiotensin II in platelets. *J Cardiovasc Pharmacol* 1987;10(10Suppl):44-7
 - Hanslik A, Kitzmüller E, Thom K, Haumer M, Mlekusch W, Salzer-Muhar U, Michel-Behnke I, Male C. Incidence of thrombotic and bleeding complications during cardiac catheterization in children: comparison of high-dose vs. low-dose heparin protocols. *J Thromb Haemost.* 2011 Dec; 9(12):2353-60. doi: 10.1111/j.1538-7836.2011.04539.x.
 - Hargis AM, Stephens LC, Benjamin SA, et al. Relationship of hypothyroidism to diabetes mellitus, renal amyloidosis, and thrombosis in purebred beagles. *Am J Vet Res* 1981;42(6):1077-1081
 - Harvey J. Evaluation of Hemostasis: Coagulation and Platelet Disorders, *Veterinary Hematology*, Saunders Elsevier Inc., 2012, 191-234
 - Hayes PD, Box H, Tull S, Bell PR, Goodall A, Naylor AR. Patients' thromboembolic potential after carotid endarterectomy is related to the platelets' sensitivity to adenosine diphosphate. *J Vasc Surg.* 2003 Dec;38(6):1226-31
 - Heap MJ, Ridley SA, Hodson K, Martos FJ. Are coagulation studies on blood sampled from arterial lines valid? *Anaesthesia* 1997;52:640-53
 - Heilman E, Friese P, Anderson S, et al. Biotinylated platelets: a new approach to the measurement of platelet lifespan. *Br J Haematol* 1993;85:729-735.
 - Hill RJ, Stenberg PE, Sullam PM, Levin J. Use of arabinogalactan to obtain washed murine platelets free of contaminating plasma proteins and appropriate for studies of function, morphology, and thrombopoiesis. *J Lab Clin Med* 1988;111:73-83
 - Hirsh J, Dalen JE, Deykin D, Poller L. Heparin: mechanism of action, pharmacokinetics, dosing considerations, monitoring, efficacy and safety. *Chest* 1992;102:337-351
 - Hoerl G, Tafeit E, Leschnik B, Wagner T, Muntean W, Juergens G, Koestenberger M, Cvirn G. Cardiac catheterization: haemostatic changes in

- pediatric versus adult patients. J Thromb Thrombolysis 2011 Okt;32(3):372-7
- Horn MK, III, Cullinane AM, Merryman PK, Hoddeson PK, Hoddeson EK. The effect of red blood cells on thrombin generation. Br J Haematol 2006;133:403-8
 - Husted SE, Kanstrup H. Thrombotic complications in coronary angioplasty-ionic versus non-ionic low-osmolar contrast media. Acta Radiol 1998;39:340-343
 - Hwang MH, Piao ZE, Murdock DK, Messmore HL, Giardina JJ, Scanlon PJ. Risk of thromboembolism during diagnostic and interventional cardiac procedures with nonionic contrast media. Radiology 1990;174:453-7
 - Jancinova V., Nosal R., Petrikova M. Dose-response Aggregometry - Contribution to the precise platelet function evaluation. Thrombosis Research 1992; 65: 1-11
 - Idee JM, Corot C. Thrombotic risk associated with the use of iodinated contrast media in interventional cardiology: pathophysiology and clinical aspects. Fundam Clin Pharmacol 1999;13:613-623
 - Iselin BM, Willmann PF, Seifert B, Casutt M, Bomeli T, Zalunardo MP, Pasch T, Spahn DR. Isolated reduction of haematocrit does not compromise in vitro blood coagulation: a randomized controlled trial. Br J Anaesth 2001;87:246-9
 - Jafir SM. Hypercoagulability in heart failure. Semin Thromb Hemost 1997; 23 (6):543-545
 - Jandrey KE. Assessment of platelet function. J Vet Emerg Crit Care 2012;22(1):81-98
 - Jin RC, Voetsch B, Loscalzo J. Endogenous mechanisms of inhibition of platelet function. Microcirculation. 2005;12:247-258
 - Johnson GJ, Rao GHR, White JG. Platelet Dysfunction Induced by Parenteral Carbenicillin and Ticarcillin. Am J Pathol 1978;91:85-106
 - Johnson LR, Lappin R, Baker DC. Pulmonary thromboembolism in 29 dogs: 1985-1995. J Vet Intern Med 1999; 13(4):388-345
 - Journeycake JM, Buchanan GR. Thrombotic complications of central venous catheters in children. Curr Opin Hematol 2003 Sep;10(5):369-74

- Judkins MP, Gander WB. Prevention of complications of coronary arteriography. *Circulation* 1974;49:559-602
- Jung F, Spitzer FG, Pindur G. Effect of an Ionic Compared to a Non-Ionic X-Ray Contrast Agent on Platelets and Coagulation during Diagnostic Cardiac Catheterization. *Pathophysiol Hemost Thromb* 2002;32:121-126
- Jurk K, Kehrel BE, Platelets: physiology and biochemistry. *Semin Thromb Hemost.* 2005;31:381-392
- Kalbantner K, Baumgarten A, Mischke R. Measurement of platelet function in dogs using a novel impedance aggregometer. *Vet J* 2009;1-7
- Katayama H, Yamaguchi K, Konzuka T, Takashima T, Seez P, Matsuura K. Adverse reactions to ionic and nonionic contrast media: a report from the Japanese committee of safety of contrast media. *Radiology* 1990;175:62-8
- Kazatchkine MD, Carreno MP. Activation of the complement system at the interface between blood and artificial surfaces. *Biomaterials* 1987;9: 30-35
- Kilinc Y, Sasmaz I, Bozkurt A, Antmen B, Acartürk A. Effect of the Radiographic Contrast Material Iopamidol on Hemostasis: An Observational Study in Thirty Cardiac Patients. *Curr Ther Res* 2003;64(7):461-472
- King DR, Cohn SM, Feinstein AJ, Proctor KG. Systemic coagulation changes caused by pulmonary artery catheters: laboratory findings and clinical correlation. *J Trauma.*2005;59:853-857
- Kittelson MD. Thromboembolic disease, in Kittelson MD, Kienle RD: *Small Animal Cardiovascular Medicine*. St. Louis, Mosby, 1998, pp 540-551
- Kittrell D, Berkwitz L. Hypercoagulability in Dogs: Pathophysiology. *Compendium:Continuing Education for Veterinarians* 2012(4):E1-E5
- Klein MK, Dow SW, Rosychuk RA. Pulmonary thrombembolism associated with immune-mediated hemolytic anemia in dogs: ten cases (1982-1987). *J Am Vet Med Assoc* 1989;195(2):246-250
- Kopko PM, Smith DC, Bull BS. Thrombin generation in nonclottable mixtures of blood and nonionic contrast agents. *Radiology* 1990;174:459-61
- Kozek-Langenecker SA. The effects of drugs used in anaesthesia on platelet membrane receptors and on platelet function. *Curr Drug Targ* 2002;3(3):247-258

-
- Kurata M., Ishizuka N., Matsuzawa M., Haruta K., Takeda K. A comparative study of whole-blood platelet aggregation in laboratory animals: its species differences and comparison with turbidimetric method. *Comparative Biochemical Physiology* 1995; 112: 359-365
 - Kwaan HA. Changes in blood coagulation, platelet function and plasminogen-plasmin system in diabetes. *Diabetes* 1992;41(2):32-35
 - Laga S., Bollen H., Arnout J., Holyaerts M., Meyns B. Heparin influences human platelet behavior in cardiac surgery with or without cardiopulmonary bypass. *Artificial Organs* 2005; 7: 541-546.
 - Langstone CE, Cowgill LD, Spano JA. Applications and outcome of hemodialysis in cats: A review of 29 cases. *J Vet Intern Med* 1997 11(6):348-355
 - LaRue MJ, Murtaugh RJ. Pulmonary thrombembolism in dogs- 47 cases (1986-1987). *J Am Vet Med Assoc* 1990; 197(10):1368-1372
 - Lee AY, Levine MN, Butler G, et al. Incidence, risk factors and outcomes of catheter-related thrombosis in adult patients with cancer. *J Clin Oncol* 2006;24:1404-8
 - Leuser C, Schlottmann S, Siekmann R, Heidt M, Moritz A, Bauer N. Use of the platelet function analyser PFA-100™ in juvenile pigs. *Comp. Clin. Pathol.* 2012; 21:761-767
 - Liebhardt MW. Durchführung und Ergebnisse kinderkardiologischer Katheterinterventionen. 2007. duepublico.uni-duisburg-essen.de
 - Linnemann B, Lindhoff-Last E. CVC-related thrombotic complications. *Vasa* 2012;41:319-332
 - Luciani A, Clement O, Halimi P, et al. Catheter-related upper extremity deep venous thrombosis in cancer patients: a prospective study based on Doppler US. *Radiology* 2001;220:655-60
 - Luepker RV, Bauchard RJ, Burns R, Warbasse JR. Systemic heparinization during percutaneous coronary angiography: evaluation of effectiveness in decreasing thrombotic and embolic catheter complications. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1975;1(1):35-45

- Maeckelbergh VA, Acierno MJ. Comparison of prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and fibrinogen concentration in blood samples collected via an intravenous catheter versus direct venipuncture in dogs. *J Am Med Assoc* 2008;233:868-873
- Malinin AI, O'Connor CM, Dzhanashvili AI, Sane DC, Serebrunany VL. Platelet activation in patients with congestive heart failure: Do we have enough evidence to consider clopidogrel? *Am Heart J* 2003;145:397-404
- Malinoski DJ, Ewing T, Patel MS, Nguyen D, Le T, Cui E, Kong A, Dolich M, Barrios C, Cinat M, et al. The natural history of upper extremity deep venous thromboses in critically ill surgical and trauma patients: what role of anticoagulation? *J Trauma* 2011;71:316-321
- Mallett SV, Cox DJ. Thrombelastography. *Br J Anaesth* 1992;69:307-313
- Marcucci R, Gori AM, Gianotti F, et al. Markers of the hypercoagulability and inflammation predict mortality in patients with heart failure. *J Thromb Hemost* 2006;4:1017-1022
- Marschner CB, Krsitensen AT, Spodsberg EH, Wiinberg B. Evaluation of platelet aggregometry in dogs using the Multiplate platelet analyzer: impact of anticoagulant choice and assay duration. *J Vet Emerg Crit Care* 2012;22(1):107-115
- Martinelli I, Bucciarelli P, Mannucci PM. Thrombotic risk factors: basic pathophysiology. *Crit Care Med*. 2010;38:2-9
- McCullough S. Immune-mediated hemolytic anemia: understanding the nemesis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2003;33:1295-1315
- McMichaels M. Primary hemostasis. *J Vet Emerg Crit Care* 2005;15(1).1-8
- Mehta J, Mehta P. Platelet function studies in heart disease; VI: enhanced platelet aggregate formation activity in congestive heart failure: inhibition by sodium nitroprusside. *Circulation* 1979;60:497-503
- Melton LG, Gabriel DA, Dehmer GJ. Simultaneous Testing of Heparin Effect on the Soluble Phase and Platelet Component of Hemostasis. *Am J Med Sci* 2003;326(6):345-352

- Mesfin GM, Higgins MJ, Brown WP, Rosnick D. Cardiovascular complications of chronic catheterization of the jugular vein in the dog. *Vet Pathol* 1988; 25:492-502
- Miller HC, Miller GAH. Experience with systemic heparinization during cardiac catheterization by brachial arteriotomy. *Br Heart J* 1974; 36:1122-1125
- Mischke R. Hämostase. In: *Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin*, 7. Auflage. Moritz A, Hrsg. Stuttgart: Schattauer 2013;197-242
- Mischke R, Keidel A. Influence of platelet count, acetylsalicylic acid, von Willebrand's disease, coagulopathies, and haematocrit on results obtained using a platelet function analyzer in dogs. *Vet J* 2003;165:43-52
- Mischke R, Nimmerfall K. Influence of a high single subcutane dose of unfractionated heparin on platelet function in dogs. *Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift* 2000;113(2):60-64
- Mischke RN, Ingo JA. Hemostasis: introduction, overview, laboratory techniques. In: Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC, eds. *Schalm's veterinary hematology*. 5rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins;200:519-25
- Mitchell RN. Hemodynamic Disorders, Thromboembolic disease, and Shock. In: *Robbins&Cotran Pathologic Basis of Disease Online*. Kumar V, Abbas KA, Nelson F, eds. Philadelphia: Elsevier Saunders 2005;119-144.
- Moesgaard SG, Sørensen TM, Sterup A, Tarnow I, Kristensen AT, Jensen AL, Olsen LH. Changes in platelet function in Dachshunds with early stages of myxomatous mitral valve disease. *Res Vet Sci*. 2009 Apr;86(2):320-4
- Moore TJ, Williams GH. Angiotensin II receptors on human platelets. *Circ res* 1982;51:314-20
- Morrissey JH, Pureza V, David-Harrison RL, et al. Blood clotting reactions on nanoscale phospholipid bilayers. *Throm Res*. 2008;122(1):23-26
- Moritz A, Becker M. Automated hematology systems. In: *Schalm's veterinary hematology*, 6th ed, Weiss&Wardrop, Wiley-Blackwell, 2010, 1054-1066
- Moritz A. Der Einsatz lasergestützter Multiparameter – Hämatologiesysteme in der Veterinärmedizin. Gießen: Büchse der Pandora Verlags GmbH, 2000
- Moser L, Callahan KS, Cheung AK, et al. ACE inhibitor effects on platelet function in stages I-II Hypertension. *J Cardiovas Pharmacol* 1997;30:461-7

- Muriithi EW, Belcher PR, Day SP, Chaudhry MA, Caslake MJ, Wheatley DJ. Lipolysis generates platelet dysfunction after in vivo heparin administration. Clin Sci 2002;103(4):433-40 (a)
- Muriithi EW, Belcher PR, Menys VC. Platelet dysfunction, platelet function tests and cardiopulmonary bypass with heparin anticoagulation. Letter to the Editors-in-Chief. Thromb Res 2002;107:81-82 (b)
- Negrescu EV, Sazonova LN, Baldenkov GN, et al. Relationship between the inhibition of receptor-induced increase in cytosolic free calcium concentration and the vasodilator effects of nitrates in patients with congestive heart failure. Int J Cardiol 1990;26:175-84
- Nelson OL, Anderson C. The Utility of Plasma D-dimer to Identify Thromboembolic Disease in Dogs. J Vet Intern Med 2003;17:830-834
- Neumann HA, Die Thrombenbildung, Das Gerinnungssystem, erste Auflage, ABW Wissenschaftsverlag GmbH, 2008, 20-24
- Newman TJ. Evaluation of iopamidol in peripheral arteriography and coronary angiography. J Am Radiol 1982;139:787-94
- Ng KF, Lam CC, Chan LC. In vivo effect of haemodilution with saline on coagulation: a randomized controlled trial. Br J Anaesth 2001;88:475-80
- Oger E, Leroyer C, Bressollette L, et al. Evaluation of a new, rapid, and quantitative D-dimer test in patients with suspected pulmonary embolism. Am J Respir Crit Care Med 1989;158:65-70
- Olsen LH, Kristensen AT, Haggstrom J, et al. Increased platelet aggregation response in Cavalier King Charles Spaniels with mitral valve prolapse. J Vet Intern Med 2001;15:209-216
- Owens AP, Mackman N. Tissue factor and thrombosis: The clot starts here. Thromb Haemost 2010;104(3):432-439
- Ozaki Y. Measurement of platelet aggregation and attempts of standardization. Sysmex Journal international 1998;8:15-22
- Page CP (ed.), The platelet in health and disease. Blackwell Scientific Publication, Oxford, 1981
- Page HL, Campbell WB. Percutaneous transfemoral coronary arteriography prevention of morbid complications. Chest 1975;67:221-225

- Palmer KG, King LG, Van Winkle TJ. Clinical manifestations and associated disease syndromes in dogs with cranial vena cava thrombosis: 17 cases (1989-1996). J Am Vet Med Assoc 1998; 213(2):220-224
- Parolari A, Guarnieri D, Alamanni F, Toscano T, Tantalò V, Gherlin T, Colli S, Foieni F, Franze V, Stanghellini M, Gianotti GA, Bigliolo P, Tremoli E. Platelet Function and Anesthetics in Cardiac Surgery: An In Vitro and Ex Vivo Study
- Pearson DT, Cardiomy reservoirs and blood filters. In: Ionescu MI. ed. Techniques in extracorporeal circulation 2nd edn. Butterworths, London. 1981:155-178
- Pittmann JR, Koenig A, Brainard BM. The effect of unfractionated Heparin on thrombelastographic analysis in healthy dogs. J Vet Emerg Crit Care 2010;20(2):216-223
- Pötzsch B, Madlener K. Das Hämostasesystem, Gerinnungskonzil, erste Auflage, Thieme Verlag, 2002, 33:212-224
- Poston R, Gu J, Manchio J, Lee A, Brown J, Gammie J, White C, Griffith BP. Platelet function tests predict bleeding and thrombotic events after off-pump coronary bypass grafting. Eur J Cardiothorac Surg. 2005 Apr;27(4):584-91
- Powers JM. Obtaining blood samples for coagulation studies from a normal saline lock. Am J Crit Care 1999;8:150-3
- Reiner JS. Contrast Media and Clotting: What is the Evidence? Catheterization and Cardiovascular Interventions 2010;75:35-38
- Reiss RF, Katz AJ. Optimizing recovery of platelets in platelet rich plasma by the simplex strategy. Transfusion 1976;16:370-4
- Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. Platelets. 2001;12:261-273
- Reynolds BS, Geffre A, Bourges-Abella NH, Vaucoret S, Mourrot M, Braun JPD, Trumel C. Effects of intravenous, low-dose ketamine-diazepam sedation on the results of hematologic, plasma biochemical, and coagulation analysis in cats. J Am Vet Med Assoc 2012;240:287-293
- Roeloffzen WWH, Kluin-Nelemans HC, Bosman L, de Wolf JTM. Effects of red blood cells on hemostasis. Transfusion 2010;50:1536-1544

- Ross R, Raines EW, Bowen-Pope DF, The biology of platelet derived growth factor. Cell, 1986;46:155-169
- Russell KE, Platelet Kinetics and laboratory evaluation of thrombocytopenia, In: Schalm's veterinary hematology, 6th ed, Weiss&Wardrop, Wiley-Blackwell, 2010, 576-585
- Ryan ML, Thorson CM, King DR, Van Haren RM, Manning RJ, Andrews DM, Livingstone AS, Proctor KG, Insertion of central venous catheters induces a hypercoagulable state. J Trauma Acute Care Surg 2012;73:385-390
- Saber W, Moua T, Williams EC et al. Risk factors for catheter-related thrombosis (CRT) in cancer patients: a patient-level data (IPD) meta-analysis of clinical trials and prospective studies. J Thromb Haemost 2011;9:312-9
- Sagripanti A, Carpi A. Antithrombotic and prothrombotic activities of the vascular endothelium. Biomed Pharmacother.2000;54:107-111
- Salzman EW, Rosenberg RD, Smith MH, Lindon JN, Favreau L. Effect of Heparin and Heparin Fractions on Platelet Aggregation J Clin Invest 1980;65:64-73
- Saniabadi AR, Lowe GD, Blech JJ, Forbes CD. Platelet aggregation inhibitory effects of the new positive inotropic agents Pimobendan and DU CG 212 in whole Blood. Cardiovascular Research 1989;23:184-190
- Santucci A, Ferri C, Lupatin LR, et al. Effect of angiotensin converting enzyme inhibition on platelet angiotensin II content. Am J Med 1988;84:84:119-21
- Saunders AB, Smith BE, Fosgate GT, Suchodolski JS, Steiner JM. Cardiac troponin I and C-reactive protein concentrations in dogs with severe pulmonic stenosis before and after balloon valvuloplasty. J Vet Cardiol 2009;Jun11(1):9-16
- Schneider M. Persistierender Ductus arteriosus (PDA), PDA mit Links-Rechts-Shunt, Kleintierkardiologie kompakt, Tobias R (Hrsg.), erste Auflage, Schütersche Hannover, 2008;9.10.1:164-166 (a)
- Schneider M. Pulmonalstenose, Kleintierkardiologie kompakt, Tobias R (Hrsg.), erste Auflage, Schütersche Hannover, 2008;9.7:152-154 (b)

- Schuster W, Vennebusch H, Doetsch N, Taube HD, Vena cava superior thrombosis following placement of internal jugular vein catheter (author's transl) *Anaesthesist*. 1978 Nov;27(11):546-7
- Shattil SJ, Bennet JS, McDonough M, Turnbull J. Carbencillin and penicillin G inhibit platelet function in vitro by impairing the interaction of agonists with the platelet surface. *J Clin Invest* 1980;71:619
- Shimanda K, Kobayashi M, und Kimura S, et al. Anticoagulant heparin-like glycosaminoglycans on endothelial cell surface. *Jpn Circ J*. 1991;55:1016-1021
- Shipley EA, Hogan DF, Fiakpui NN, Magee AN, Green HW 3rd, Sederquist KA. In vitro effect of pimobendan on platelet aggregation in dogs. *Am J Vet Res*. 2013 Mar;74(3):403-7
- Smith A, McPerson J, Taylor M, Mason A, Carney S, Gillies A. Pro-haemorrhagic effects of calcium antagonists: a comparison of isradipine and atenolol on ex vivo platelet function in hypertensive subjects. *J Hum Hypertens* 1997;11:783-788
- Smith RS, Zhang Z, Bouchard M, Li J, Lapp HS, Brotske GR, Lucchino DL, Weaver D, Roth LA, Coury A, Biggerstaff J, Sukavaneshvar S, Langer R, Loose C. Vascular catheters with a nonleaching poly-sulfobetaine surface modification reduce thrombus formation and microbial attachment. *Sci Transl Med*. 2012 Sep 26;4(153):153ra132.
- Smith SA, Hemostasis, Schalm's veterinary hematology, sixth edition, Weiss & Wardrop, Wiley- Blackwell, 2010: 635-653
- Smith SA. The cell-based model of coagulation. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2009; 19:3-10
- Smith, SA. Antithrombotic Therapy. *Compan An Med* 2012;27:88-94
- Someya N, Morotomi Y, Kodama K, et al. Suppressive effect of captopril on platelet aggregation in essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1984;6:840-3
- Sosin MD, Bhatia G, Davis RC, Lip GY. Congestive Heart Failure and Virchow's Triad: A Neglected Association. *Wien Med Wochenschr*. 2003;153(19-20):411-6

-
- Spivak JL. Polycythemia vera: myths, mechanism, and management. *Blood* 2002;100:4272-90
 - Stanger P, Heymann MA, Tarnoff H, Hoffmann JIE, Rudolph AM. Complications of cardiac catheterization of neonates, infants and children. A three-year study. *Circulation* 1974;50:595
 - Stockham SL, Scott MA. Hemostasis. In: *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. Second edition, Blackwell Publishing Asia, Australia, 2008
 - Taggart R, Austin B, Hans E, Hogan D. In vitro evaluation of the effect of hypothermia on coagulation in dogs via thromboelastography. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 2012 Apr;22(2):219-24
 - Tanaka R, Murota A, Nagashima Y, Yamane Y. Changes in platelet life span in dogs with mitral valve regurgitation. *J Vet Intern Med*. 2002 Jul-Aug;16(4):446-51
 - Tanaka R, Yamane Y. Platelet aggregation in dogs with mitral valve regurgitation. *Am Vet Res* 2000 Oct;61(10):1248-56
 - Taneja R, Liaw PL, Al Ghazaly S, Priestap F, Murkin JM, Martin CM. Effect of Cardiopulmonary Bypass on Thrombin Generation and Protein C Pathway. *J Cardioth Vasc Anesth* 2013;27(1)Feb:35-40
 - Tarnow I, Falk T, Tidholm A, Martinussen T, Jensen AL, Olsen LH, Pedersen HD, Kristensen AT. Hemostatic Biomarkers in Dogs with Chronic Congestive Heart Failure. *J Vet Intern Med* 2007; 21:451-457
 - Toth O, Calatzis A, Penz S, Losonczy H, Siess W. Multiplate electrode aggregometry: a new device to measure platelet aggregation in whole blood. *Thrombosis and Haemostasis* 2006;96:781-788
 - Uijttewaal Ws, Nijhof EJ, Bronkhorst PJ, Den Hartog E, Heethaar RM. Near-wall excess of platelets induced by lateral migration of erythrocytes in flowing blood. *Am J Physiol* 1993;264:H1239-44
 - Van Israel, N, French, AT, Wotton, PR, et al. (2001), "Hemolysis associated with patent ductus arteriosus coil embolization in a dog", *J Vet Intern Med*; 15:153-156.

- Van Winkle TJ, Bruce E. Thrombosis of the portal vein in eleven dogs. *Vet Pathol* 1993;30(1):28-35
- Verso M, Agnelli G. Venous thromboembolism associated with long-term use of central venous catheters in cancer patients. *J Clin Oncol* 2003;21:3665-75
- Walsh PN. Platelets: yin and yang. *Blood*. 2010;115:1-2
- Walter M, Liebens I, Goethals H, Renard M, Dresse A, Bernhard R. Pimobendane (D-CG 115 BS) in the treatment of severe congestive heart failure. An acute hemodynamic cross-over and double-blind study with two different doses. *Br J Clin Pharmacol* 1988;25:323-329
- Weiss DJ, Brazzell JL. Detection of activated platelets in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. *J Vet Intern Med* 2006;20(3):682-686
- Welles EG, Boudreaux MK, Crager CS, Tyler JW. Platelet function and antithrombin, plasminogen and fibrinolytic activities in cats with heart disease. *Am J Vet Res* 1994;55(5):619-627
- Welles EG, Prasse KW, Moore JN. Use of newly developed assays for protein C and plasminogen in horses with colic. *Am J Vet Res* 1991;51:1075-1079
- Welters I, Menges T, Ballesteros M, Knothe C, Ruwoldt R, Görlach G, Hempelmann G. Thrombin generation and activation of the thrombomodulin protein C system in open heart surgery depend on the underlying cardiac disease. *Thromb Res*. 1998 Oct 1;92(1):1-9.
- Wessel DL, Keane JF, Fellows KE, Robichaud H, Lock JE. Fibrinolytic therapy for femoral arterial thrombosis after cardiac catheterization in infants and children. *Am J Cardiol* 1986;58:347
- Wiinberg B, Jensen AL, Rojkaer R, et al. Validation of human recombinant tissue factor-activated thromboelastography on citrated whole blood from clinically healthy dogs. *Vet Clin Pathol* 2005;34:389–393
- Williams MT, Aravindan N, Wallace MJ, et al. Venous thrombosis in the intensive care unit. *Crit Care Clin* 2003;19(2):185-207
- Woller SC, Stevens SM, Jones JP et al. Derivation and validation of a simple model to identify venous thromboembolism risk in medical patients. *Am J Med* 2011;124(10):947-954,e2

-
- Wu KK, Thiagarajan P. Role of endothelium in thrombosis and hemostasis. *Annu Rev Med*, 1996;47:315-331
 - Xi M: Importance of factor IX dependant prothrombinase formation-The Jasso-Pathway- in clotting plasma. *Heamostasis* 19 (1989), 301
 - Zeng XC, Wu WF, Huang K, Guo SL, Liu TW. Enhanced Prothrombin Formation and Platelet Activation in Chinese Patients After Transkathetr Closure of Atrial Septal Defect. *Clin Cardiol* 2010;33(7):6-9
 - Zoia A, Augusto M, Drigo M, Caldin M. Evaluation of hemostatic and fibrinolytic markers in dogs with ascites attributable to right-sided congestive heart failure. *J Am Vet Med Assoc* 2012;241:1336-1243
 - Zurbano MJ, Anguera I, Heras M, et al. Captopril administration reduces thrombus formation and surface expression of platelet glykoprotein IIb/IIIa in early postmyocardial infarction stage. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1791-5

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei Allen herzlich bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr. Moritz danke ich für die Überlassung dieses interessanten Themas, die stete Unterstützung und die wertvollen Hinweise bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Ebenso gilt mein besonderer Dank Frau PD. Dr. Bauer für Ihre Hilfsbereitschaft und Energie bei meiner gesamten Ausbildung und der Erstellung dieser Arbeit. Ich habe viel von Ihr gelernt.

Ich bedanke mich bei der gesamten Arbeitsgruppe Biomathematik unter der Leitung von Herrn Akad. Dir. Dr. rer. nat. Klaus Failing für die statistischen Analysen.

Weiterhin möchte ich mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. Schneider und seiner gesamten Arbeitsgruppe Kardiologie, insbesondere bei Herrn Dr. Hildebrandt und Herrn Dr. Stosic bedanken, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre und die mich menschlich wie fachlich immer wieder beeindrucken.

Ein ganz großer Dank geht an die freundlichen und kompetenten Mitarbeiter des Zentrallabors, insbesondere an Frau Claudia Bender für die sorgfältige und gewissenhafte Durchführung der zahlreichen Gerinnungsanalysen, auch außerhalb der regulären Arbeitszeiten. Frau Bender hat mit Ihrer Erfahrung, Ihrem Wissen und Ihrer Geduld entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Ganz herzlich möchte ich mich auch bei meinem Studienfreund und Kollegen Pavel Orlov für die unkomplizierte und freundschaftliche Zusammenarbeit rund um das Katheterlabor bedanken. Nur als Team waren die oft komplexen und zeitaufwendigen Messungen zu bewältigen.

Meiner Freundin Elif möchte ich ganz besonders danken. Sie unterwies mich in der Nutzung der komplexen Aggregometrie-Automaten, gab ihr Wissen als kompetente Lehrerin an mich weiter und stand mir vor allem jederzeit als Freundin mit ihrer ganz besonderen Art zur Seite.

Ein liebes Dankeschön geht an Christine Simon, die mir eine tolle Arbeitskollegin und Freundin ist und durch deren technisches Talent sich graphische Probleme mühelos bewältigen ließen.

Auch meinen Freunden Sina, Tina J., Tina S. und Claudi, Jessi, Caro und Judith möchte ich herzlich danken. Jede war auf ihre eigene Weise für mich da.

Weiterhin gilt mein lieber Dank meiner besten Freundin Janina ohne die nicht zur Kleintierinternistik gekommen wäre und ohne die ein besonders wichtiger Teil meines Lebens fehlen würde.

Von ganzem Herzen geht mein Dank auch an meine lieben und leider fernen Freunde Eva und Felix, die im Herzen immer bei mir sind und mit denen ich das Leben genießen kann wie mit niemandem sonst.

Ich danke meiner ganzen großen und unglaublich tollen Familie für ihre Unterstützung und ihr Interesse, allen voran meiner lieben Tante Gaby, ein ganz besonders wertvoller und großartiger Mensch.

Ebenso möchte ich meinen wunderbaren Schwiegereltern Helga und Jochen danken, da sie mich bedingungslos und liebevoll in ihre Familie aufgenommen haben und die wie zweite Eltern für mich sind.

Gleichermaßen geht mein Dank an zwei überaus wichtige Menschen in meinem Leben. Meinen Freund Nico, der mir durch seine Gelassenheit, Ruhe und Liebe immer Kraft gibt und meiner Schwester Leonie, die mich durch ihre enthusiastische Art und ihre ausgesprochene Lebensfreude jederzeit aufmuntern kann.

Nicht auslassen möchte ich meine Dackelhündin Uffie, die mir jeden Tag meines Lebens versüßt.

Abschließend danke ich den beiden wichtigsten Menschen in meinem Leben, meinen Eltern Eva und Bernhard, die mich mit viel Liebe ins Leben entlassen haben und die ich liebe weil sie so sind wie sie sind. Danke.



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG
STAUFENBERGRING 15
D-35396 GIESSEN

Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890
redaktion@doktorverlag.de
www.doktorverlag.de

ISBN: 978-3-8359-6277-4



9 783835 196274